rede e-Tec Brasil

Microbiologia Geral

Darlene Ana de Paula Vieira

Nayara Cláudia de Assunção Queiroz Fernandes

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIÁS
Campus Inhumas

Inhumas - GO
2012

Presidência da República Federativa do Brasil

Ministério da Educação

Secretaria de Educação Profissional e Tecnológica

© Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás

Este Caderno foi elaborado em parceria entre o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás/IFG-Inhumas e a Universidade Federal de Santa Maria para o Sistema Escola Técnica Aberta do Brasil – Rede e-Tec Brasil.

Equipe de Elaboração – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás/ IFG - Inhumas

Reitor
Paulo César Pereira/IFG-Inhumas

Diretor Geral
Cleiton José da Silva/IFG-Inhumas

Coordenação Institucional
Daniel Aldo Soares/IFG-Inhumas

Professor-autor
Darlene Ana de Paula Vieira/IFG - Inhumas
Nayara Cláudia de A. Queiroz Fernandes/IFG-Inhumas

Equipe Técnica
Renata Luiza da Costa/IFG-Inhumas
Rodrigo Cândido Borges/IFG - Inhumas
Shirley Carmem da Silva/IFG-Inhumas
Viviane Margarida Gomes/ IFG - Inhumas

Comissão de Acompanhamento e Validação Colégio Técnico Industrial de Santa Maria/CTISM

Coordenador Institucional
Paulo Roberto Colusso/CTISM

Coordenação Técnica
Iza Neuza Teixeira Bohrer/CTISM

Coordenação de Design
Erika Goellner/CTISM

Revisão Pedagógica
Andressa Rosemárie de Menezes Costa/CTISM
Francine Netto Martins Tadielo/CTISM
Marcia Migliore Freo/CTISM

Revisão Textual
Daiane Siveris/CTISM
Lourdes Maria Grotto de Moura/CTISM
Vera Maria Oliveira/CTISM

Revisão Técnica
Josiane Pacheco Menezes/CTISM
Diego Pascoal Golle/CTISM

Ilustração
Rafael Cavalli Viapiana/CTISM

Diagramação
Gustavo Schwendler/CTISM
Leandro Felipe Aguilar Freitas/CTISM
Maíra Rodrigues/CTISM
Máuren Fernandes Massia/CTISM

Ficha catalográfica elaborada por Maria Aparecida Rodrigues de Souza
CRB 1/1497 – bibliotecária do IFG – Campus Inhumas

V658m

Vieira, Darlene Ana de Paula
Microbiologia Geral / Darlene Ana de Paula Veira, Nayara Cláudia de Assunção Queiroz. – – Inhumas: IFG; Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2012.
100 p. : il.
Bibliografia.

Caderno elaborado em parceria entre o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás/IFG-Inhumas e a Universidade Federal de Santa Maria para o Sistema Escola Técnica Aberta do Brasil – e-Tec Brasil.

1. Microbiologia Geral. 2. Microrganismos. 3. Fernandes, Nayara Cláudia de Assunção Queiroz. I. Título.

CDD 579

Apresentação e-Tec Brasil

Prezado estudante,

Bem-vindo ao e-Tec Brasil!

Você faz parte de uma rede nacional pública de ensino, a Escola Técnica Aberta do Brasil, instituída pelo Decreto nº 6.301, de 12 de dezembro de 2007, com o objetivo de democratizar o acesso ao ensino técnico público, na modalidade a distância. O programa é resultado de uma parceria do Ministério da Educação, por meio das Secretarias de Educação a Distância (SEED) e de Educação Profissional e Tecnológica (SETEC), as universidades e escolas técnicas estaduais e federais.

A educação a distância no nosso país, de dimensões continentais e grande diversidade regional e cultural, longe de distanciar, aproxima as pessoas ao garantir acesso à educação de qualidade e ao promover o fortalecimento da formação de jovens moradores de regiões distantes dos grandes centros geográfica e ou economicamente.

O e-Tec Brasil leva os cursos técnicos a locais distantes das instituições de ensino e para a periferia das grandes cidades, incentivando os jovens a concluir o ensino médio. Os cursos são ofertados pelas instituições públicas de ensino, e o atendimento ao estudante é realizado em escolas-polo integrantes das redes públicas municipais e estaduais.

O Ministério da Educação, as instituições públicas de ensino técnico, seus servidores técnicos e professores acreditam que uma educação profissional qualificada – integradora do ensino médio e da educação técnica, – é capaz de promover o cidadão com capacidades para produzir, mas também com autonomia diante das diferentes dimensões da realidade: cultural, social, familiar, esportiva, política e ética.

Nós acreditamos em você!

Desejamos sucesso na sua formação profissional!

Ministério da Educação
Janeiro de 2010

Nosso contato
etecbrasil@mec.gov.br

Indicação de ícones

Os ícones são elementos gráficos utilizados para ampliar as formas de linguagem e facilitar a organização e a leitura hipertextual.

Atenção: indica pontos de maior relevância no texto.

Saiba mais: oferece novas informações que enriquecem o assunto ou "curiosidades" e notícias recentes relacionadas ao tema estudado.

Glossário: indica a definição de um termo, palavra ou expressão utilizada no texto.

Mídias integradas: sempre que se desejar que os estudantes desenvolvam atividades empregando diferentes mídias: vídeos, filmes, jornais, ambiente AVEA e outras.

Atividades de aprendizagem: apresenta atividades em diferentes níveis de aprendizagem para que o estudante possa realizá-las e conferir o seu domínio do tema estudado.

Sumário

Palavra do professor-autor 9

Apresentação da disciplina 11

Projeto instrucional 13

Aula 1 – Principais áreas da microbiologia e microscopia 15

1.1 Apresentação 15

1.2 Microbiologia básica 15

1.3 Microbiologia aplicada 16

1.4 Características dos principais grupos de microrganismos 16

1.5 Microscopia 17

Aula 2 – A célula 23

2.1 Apresentação 23

2.2 A célula: unidade fundamental da vida que se ligam ao DNA 23

2.3 Diferenças entre organismos procariontes e eucariontes 26

2.4 Citoplasma 27

2.5 Organelas citoplasmáticas 27

Aula 3 – Bactérias: morfologia e estruturas 37

3.1 Apresentação 37

3.2 Bactérias 37

3.3 Morfologia: tamanho, forma e arranjos bacterianos 37

3.4 Estruturas externas da célula bacteriana 41

3.5 Membrana plasmática – modelo mosaico fluido 47

3.6 Estruturas internas da célula bacteriana 48

Aula 4 – Bactérias: reprodução, nutrição e crescimento 51

4.1 Apresentação 51

4.2 Reprodução bacteriana 51

4.3 Nutrição das bactérias 55

4.4 Crescimento das bactérias 56

Aula 5 – Fungos (leveduras): morfologia e estruturas 61
5.1 Apresentação 61
5.2 Fungos 61
5.3 Leveduras 62
5.4 Estruturas da célula da levedura 64

Aula 6 – Fungos (leveduras): reprodução, nutrição e crescimento 67
6.1 Apresentação 67
6.2 Reprodução das leveduras 67
6.3 Nutrição das leveduras 69
6.4 Crescimento das leveduras 70

Aula 7 – Metabolismo e cinética dos microrganismos 73
7.1 Apresentação 73
7.2 Metabolismo 73
7.3 Microrganismos para aplicação em processos industriais 78
7.4 Cinética dos processos fermentativos 79
7.5 Métodos para quantificação do crescimento 84

Aula 8 – Provas bioquímicas e cultura de microrganismos 87
8.1 Apresentação 87
8.2 Provas bioquímicas 87
8.3 Prova da motilidade 90
8.4 Meios de cultivo 91
8.5 Técnicas de semeadura 92
8.6 Método do Número Mais Provável (NMP) 96

Referências 99

Currículo do professor-autor 100

Palavra do professor-autor

A disciplina de microbiologia, juntamente com a matemática, a química e a física, constitui um dos ramos fundamentais das ciências básicas. O conhecimento e o estudo detalhado dos microrganismos e de suas funções permitem estabelecer seu uso em aplicações muito variadas, desde o campo médico, alimentar e ambiental, agrícola e industrial. Desse modo, a microbiologia consolida-se como um dos pilares da biotecnologia.

Neste caderno apresentaremos a microbiologia geral, que é voltada para o estudo da morfologia, seus arranjos e reações aos processos de coloração, fisiologia, metabolismo, caracterização e identificação dos microorganismos.

Ao adentrar o universo microbiológico, você terá condições de multiplicar seu conhecimento, mas como em toda disciplina, não serão esgotados os assuntos aqui iniciados, proporcionando a retomada e a complementação dos assuntos abordados através de atividades e sugestões de estudo no ambiente virtual de ensino-aprendizagem do curso. Uma fonte importante de consulta serão os sítios eletrônicos sobre microbiologia. Também, para que se possa aproveitar melhor o presente material, sugerimos caro estudante, que você faça uma leitura cuidadosa do texto, explorando também as figuras que acompanham e ilustram as explicações.

Como em todo curso, ou em qualquer situação nova, existirão momentos desafiadores, que nos levarão a mudanças, as quais são imprescindíveis para a nossa formação.

Bons estudos.

Apresentação da disciplina

"Não se pode ensinar tudo a alguém,
pode-se apenas ajudá-lo a encontrar por si mesmo".
Galileu Galilei

A **microbiologia** [do grego: *mikros* ("pequeno"), *bios* ("vida") e *logos* ("ciência")] é o estudo dos organismos microscópicos e de suas atividades. Preocupa-se com a forma, a estrutura, a reprodução, a fisiologia, o metabolismo e a identificação dos microrganismos. Assim a microbiologia envolve o estudo de organismos **procariotos** (bactérias, *archaeas*), **eucariotos inferiores** (algas, protozoários, fungos) Figura A.

A microbiologia teve início com o polimento de lentes, feitas a partir de peças de vidro, combinadas até produzir aumentos suficientemente grandes que possibilitassem a visualização dos microrganismos. Os relatos de Robert Hooke e Antony van Leeuwenhoek possibilitaram as primeiras observações de bactérias e outros microrganismos. Embora não tenha sido, provavelmente, o primeiro a ver as bactérias e os protozoários, o holandês Antony van Leeuwenhoek (1632-1723) foi o primeiro a relatar suas observações, com descrições precisas e desenhos. Embora van Leeuwenhoek seja considerado o "pai" da microbiologia, os relatos de Hooke, descrevendo a estrutura de um bolor, foram publicados anteriormente aos de Leeuwenhoek. Assim, esses dois pesquisadores são considerados os pioneiros nessa ciência.

Para saber mais sobre a forma de algumas bactérias e a história da microbiologia, acesse: http://www.portalsaofrancisco.com.br/alfa/microbiologia/microbiologia-3.php

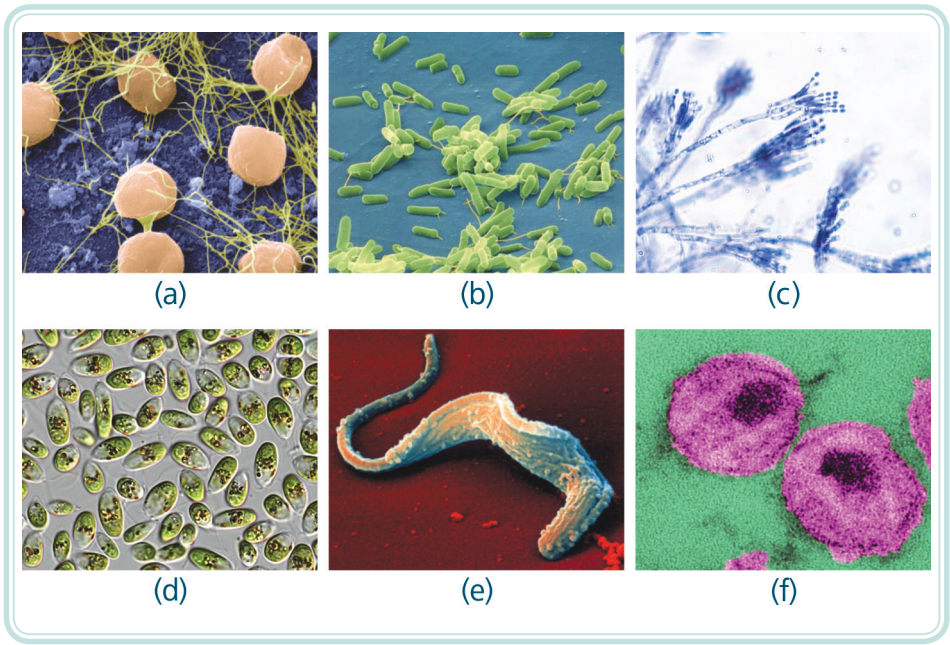


Figura A: Exemplos de microorganismos: (a) *Archeae*; (b) Bactéria; (c) Fungo *Penicilium*; (d) Alga; (e) Protozoário *Tripanossoma cruzi* e (f) Vírus HIV

Fonte: (a) www.microbiologybytes.com
(b) http://www.sciencemusings.com/blog/uploaded_images/Bacteria-772833.jpg
(c) http://faculty.clintoncc.suny.edu
(d) http://lectoracorrent.blogspot.com
(e) http://cbme.usp.br
(f) http://pathmicro.med.sc.edu/lecture/hiv9.htm

Projeto instrucional

Disciplina: Microbiologia Geral (carga horária: 60h).

Ementa: Morfologia, estrutura celular e reprodução de bactérias e leveduras. Bioquímica das fermentações. Velocidade de reações fermentativas e fatores que as influenciam. Fatores que influenciam no desenvolvimento de microorganismos. Procedimentos básicos de análises microbiológicas. Unidades de medidas, sistemas de unidades e fatores de conversão para expressar os resultados das análises efetuadas.

AULA	OBJETIVOS DE APRENDIZAGEM	MATERIAIS	CARGA HORÁRIA (horas)
1. Principais áreas da microbiologia e microscopia	Reconhecer a importância da microbiologia nas diferentes áreas biológicas. Compreender as principais características dos microrganismos. Compreender a importância da microscopia no estudo da microbiologia, reconhecendo as principais partes e os tipos de microscópio. Entender como as imagens são ampliadas.	Apostila didática, composta de introdução, objetivos e um roteiro de estudo, composto por textos, figuras, exemplos, equações, links, mídias integradas, questionamentos, reflexões, lembretes, atividades de aprendizagem e síntese. No ambiente virtual serão disponibilizadas atividades complementares, bem como fóruns para discussão.	04
2. A célula	Compreender que as células são unidades fundamentais da vida. Diferenciar células procariontes de células eucariontes.	Apostila didática, composta de introdução, objetivos e um roteiro de estudo, composto por textos, figuras, exemplos, equações, links, mídias integradas, questionamentos, reflexões, lembretes, atividades de aprendizagem e síntese. No ambiente virtual serão disponibilizadas atividades complementares, bem como fóruns para discussão.	05
3. Bactérias: morfologia e estrutura	Conhecer as bactérias: seu tamanho e sua morfologia. Compreender as estruturas das células bacterianas. Entender e diferenciar bactérias Gram positivas de Gram negativas. Identificar estruturas da membrana e do citoplasma bacteriano.	Apostila didática, composta de introdução, objetivos e um roteiro de estudo, composto por textos, figuras, exemplos, equações, links, mídias integradas, questionamentos, reflexões, lembretes, atividades de aprendizagem e síntese. No ambiente virtual serão disponibilizadas atividades complementares, bem como fóruns para discussão.	07

AULA	OBJETIVOS DE APRENDIZAGEM	MATERIAIS	CARGA HORÁRIA (horas)
4. Bactérias: reprodução, nutrição e crescimento	Compreender os tipos de reprodução bacteriana. Conhecer as formas de obtenção de energia das bactérias. Entender e diferenciar macro de micronutrientes. Compreender as fases da curva de crescimento das bactérias. Compreender os fatores que limitam o crescimento das bactérias.	Apostila didática, composta de introdução, objetivos e um roteiro de estudo, composto por textos, figuras, exemplos, equações, links, mídias integradas, questionamentos, reflexões, lembretes, atividades de aprendizagem e síntese. No ambiente virtual serão disponibilizadas atividades complementares, bem como fóruns para discussão.	07
5. Fungos (leveduras): morfologia e estruturas	Conhecer os fungos: suas principais características. Conhecer a importância das leveduras nos processos industriais. Identificar as formas e os arranjos morfológicos das leveduras. Compreender as estruturas das células das leveduras.	Apostila didática, composta de introdução, objetivos e um roteiro de estudo, composto por textos, figuras, exemplos, equações, links, mídias integradas, questionamentos, reflexões, lembretes, atividades de aprendizagem e síntese. No ambiente virtual serão disponibilizadas atividades complementares, bem como fóruns para discussão.	08
6. Fungos (leveduras): reprodução, nutrição e crescimento	Compreender os tipos reprodutivos das leveduras. Conhecer as formas de obtenção de energia das leveduras. Entender a nutrição das leveduras. Compreender a curva de crescimento e os fatores que limitam o crescimento das leveduras.	Apostila didática, composta de introdução, objetivos e um roteiro de estudo, composto por textos, figuras, exemplos, equações, links, mídias integradas, questionamentos, reflexões, lembretes, atividades de aprendizagem e síntese. No ambiente virtual serão disponibilizadas atividades complementares, bem como fóruns para discussão.	10
7. Metabolismo e cinética dos microrganismos	Compreender o metabolismo e a cinética dos microrganismos. Diferenciar e entender anabolismo e catabolismo. Conhecer tipos fermentativos. Entender o rendimento energético na respiração e na fermentação. Entender os cálculos do tempo de geração e a taxa de crescimento.	Apostila didática, composta de introdução, objetivos e um roteiro de estudo, composto por textos, figuras, exemplos, equações, links, mídias integradas, questionamentos, reflexões, lembretes, atividades de aprendizagem e síntese. No ambiente virtual serão disponibilizadas atividades complementares, bem como fóruns para discussão.	10
8. Provas bioquímicas e cultura de microrganismos	Conhecer princípios e procedimentos de diversas provas (testes) bioquímicas usadas na identificação de microrganismos. Conhecer técnica de enumeração e detecção de microrganismos – Método do Número Mais Provável (NMP).	Apostila didática, composta de introdução, objetivos e um roteiro de estudo, composto por textos, figuras, exemplos, equações, links, mídias integradas, questionamentos, reflexões, lembretes, atividades de aprendizagem e síntese. No ambiente virtual serão disponibilizadas atividades complementares, bem como fóruns para discussão.	05

Aula 1 – Principais áreas da microbiologia e microscopia

"Meditai se só as nações fortes podem fazer ciência ou se é a ciência que as torna fortes".

Oswaldo Cruz

Objetivos

Reconhecer a importância da microbiologia nas diferentes áreas biológicas.

Compreender as principais características dos microrganismos.

Compreender a importância da microscopia no estudo da microbiologia, reconhecendo as principais partes e os tipos de microscópio.

Entender como as imagens são ampliadas.

1.1 Apresentação

As informações aqui apresentadas auxiliarão na compreensão de algumas áreas de atuação da microbiologia, assim como na apreensão das principais características dos microrganismos. Existem numerosos aspectos no estudo da microbiologia, que é dividido em duas áreas: a microbiologia básica e a microbiologia aplicada.

1.2 Microbiologia básica

A Microbiologia Básica estuda:

- A natureza e as propriedades dos microrganismos (morfológicas, fisiológicas, bioquímicas, etc.).
- Características morfológicas (tamanho e forma das células, composição química, etc.).

- Características fisiológicas (nutrição e condições de crescimento e reprodução).
- Atividades bioquímicas (obtenção de energia pelos microrganismos).
- Características genéticas (hereditariedade e variabilidade das características).
- Características ecológicas (microrganismos no ambiente e sua relação com outros organismos).
- Potencial patogênico dos microrganismos.
- Classificação (relação taxonômica entre os grupos dos microrganismos).

1.3 Microbiologia aplicada

A microbiologia aplicada estuda o controle e o uso dos microrganismos de maneira benéfica (processos industriais, controle de pragas e de doenças, produção de alimentos, etc.).

Para saber mais sobre a importância da microbiologia, acesse: http://www.portalsaofrancisco.com.br/alfa/microbiologia/microbiologia-2.php

Na área industrial, os microrganismos são utilizados na síntese de substâncias químicas como ácido cítrico, antibióticos mais complexos e enzimas.

Na área ambiental, os microrganismos são usados como agentes de biodegradação e de limpeza ambiental, no controle de pragas, etc.

A microbiologia médica trata dos microrganismos causadores de doenças e da prevenção e controle das mesmas.

A microbiologia dos alimentos está relacionada com doenças transmitidas por alimentos, controle de qualidade e produção de alimentos (queijos, bebidas, pães, etc.).

1.4 Características dos principais grupos de microrganismos

Os microrganismos procariontes compreendem as bactérias, que se dividem em eubactérias e arqueobactérias, e os microrganismos eucariontes, que compreendem os protozoários e alguns fungos. (Quadro 1.1)

Quadro 1.1: Características dos principais grupos de microrganismos

Microrganismos	Características
1. Vírus	Acelulares; menores e mais simples, em estrutura que as bactérias; contém geralmente apenas um tipo de ácido nucléico (**DNA** ou **RNA**), protegido por uma capa protéica; podem multiplicar-se apenas dentro das células vivas. Porém, poucos vírus de DNA, como o citomegalovírus e o vírus da hepatite B, podem iniciar a síntese de moléculas de RNA enquanto ainda estão se formando, de modo que a partícula viral contém os dois tipos de ácidos nucléicos (DNA e RNA).
2. Bactérias	São **procariontes**; não possuem membrana nuclear (**carioteca**) e estruturas membranosas intracelulares organizadas; são divididas em dois grupos: Eubactérias e Arqueobactérias.
Eubactérias	Apresentam várias formas (esférica, bastonete e espirilo), aparecem isoladas ou em formas de colônias; variam de 0,2 – 5,0 µm; são unicelulares e algumas apresentam flagelos.
Arqueobactérias	São semelhantes às eubactérias, mas apresentam diferenças importantes quanto a sua composição química, habitam ambientes extremos como os de altas concentrações salinas, os de acidez e os de temperatura.
3. Protozoários	São **eucariontes**; unicelulares, não apresentam parede celular rígida, não contém clorofila; alimentam-se por ingestão; alguns movem-se por meio de flagelos ou cílios e são amplamente distribuídos na natureza.
4. Fungos	São eucariontes; com parede celular rígida; uni ou pluricelulares; desprovidos de clorofila; alimentam-se por absorção. São conhecidos como bolores, leveduras e cogumelos.
Bolores	São fungos multicelulares e produzem estruturas filamentosas (hifas e micélios).
Leveduras	São fungos unicelulares e apresentam formas variadas (esférica a ovóide; elipsóide a filamentosos).
5. Algas	São eucariontes; contém clorofila (realizam fotossíntese); podem ser uni ou pluricelulares; apresentam parede celular rígida; crescem em diversos ambientes, mas a maioria é aquática.

Fonte: Adaptado de Amabis e Martho, 2004

A-Z

DNA
Ácido desoxirribonucléico.

RNA
Ácido ribonucléico.

procariontes
Seres unicelulares que não possuem carioteca.

carioteca
Membrana que separa o material genético do citoplasma.

eucariontes
Seres uni ou pluricelulares que possuem carioteca.

Classificação dos seres vivos
http://vsites.unb.br/ib/cel/microbiologia/intromicro/intromicro.html#classificacao

1.5 Microscopia

O microscópio é um instrumento indispensável para os trabalhos laboratoriais, tornando possível a observação de estruturas invisíveis a olho nu.

Os microscópios são classificados dependendo do princípio no qual a ampliação é baseada. Eles podem ser:

Ópticos – empregam dois sistemas de lentes, ocular e objetiva, através das quais a imagem ampliada é obtida. (Figura 1.1)

Eletrônicos – empregam um feixe de elétrons para produzir a imagem ampliada.

O microscópio óptico é utilizado para observar células procariotas e eucariotas, e o eletrônico, detalhes celulares e vírus.

Figura 1.1: Partes do microscópio óptico
Fonte: CTISM

1.5.1 Partes mecânicas do microscópio

Pé (1) – dá suporte ao microscópio, garantindo a estabilidade.

Braço (3) – haste vertical ou inclinável fixada à base.

Platina (4) – plataforma na qual se colocam as preparações a serem observadas. Apresenta no centro, uma abertura por onde passam os raios luminosos.

Revólver (6) – suporte das objetivas, fixado à extremidade inferior do tubo, serve para facilitar a substituição de uma objetiva por outra, colocando-as por rotação em posição de observação.

Canhão (7) – suporte cilíndrico da ocular.

Parafuso macrométrico ou dos grandes deslocamentos (2) – permite movimentos de grande amplitude e rápidos, por deslocamento vertical da platina. É indispensável para fazer as focagens.

Parafuso micrométrico ou de focagem lenta (3) – permite movimentos lentos do deslocamento da platina para focagens mais precisas.

1.5.2 Partes ópticas do microscópio

Sistema de ampliação – consiste na associação de dois conjuntos de lentes (objetiva e ocular), constituindo u m sistema óptico composto. A ampliação total resulta do produto da capacidade de ampliação da objetiva pela capacidade de ampliação da ocular. Veja a Tabela 1.1.

Tabela 1.1: Produtos da ampliação do microscópio óptico

Ampliação		Ampliação final
Objetiva	Ocular	Objetiva x ocular
4x	10x	40x
10x	10x	100x
45x	10x	450x
100x	10x	1000x

Fonte: Adaptado de http://www.mundodacana.com

Objetiva – aumenta a imagem do objeto.

Objetiva de imersão – é a lente que fornece maior aumento, é muito usada em laboratório de microbiologia. É necessário óleo de imersão para assegurar um trajeto do raio luminoso opticamente homogêneo entre a lâmina e a lente objetiva. Depois do uso, devem-se limpar as superfícies ópticas com papel absorvente com um pouco de xilol, pois restos de óleo podem danificar o sistema óptico do microscópio.

Ocular – lente que aumenta a imagem recebida da objetiva.

Sistema de iluminação – consiste na associação de três peças fundamentais:

- **Espelho duplo** ou **fonte de luz** – destina-se a refletir para a platina a luz que recebe da fonte luminosa.

- **Diafragma** – regula a intensidade de luz no campo visual do microscópio.

- **Condensador** – distribui regularmente no campo visual do microscópio a luz refletida pelo espelho ou diretamente da fonte luminosa.

Quadro 1.2: Comparativo de diferentes tipos de microscópios

Tipo de microscópio	Ampliação máxima útil	Observação do espécime	Aplicações
Campo claro	1.000 – 2.000	Microrganismos e tecidos corados ou descorados; as bactérias, geralmente coradas, aparecem com a cor do corante	Características morfológicas grosseiras de bactérias, leveduras, bolores, algas e protozoários
Campo escuro	1.000 – 2.000	Microrganismos vivos sem prévia preparação; aparecem brilhantes ou iluminados sobre um campo escuro	Microrganismos que exibem algumas características morfológicas especiais quando vivos e em suspensão fluida; por exemplo, as espiroquetas
Fluorescência	1.000 – 2.000	Luminoso e corado; cor do corante fluorescente	Técnica de diagnóstico em que o corante fluorescente fixado ao organismo revela a sua identidade
Contraste de fase	1.000 – 2.000	Graus variáveis de iluminação	Exame de estruturas celulares em microrganismos maiores e vivos; por exemplo, leveduras, algas, protozoários e algumas bactérias
Eletrônico	200.000 – 400.000	Observado em tela fluorescente	Exame das ultra-estruturas das células Microbianas e de vírus

Fonte: Pelczar et al, 1996

Tendo em vista que a base desta disciplina é trabalhar com microrganismos, é importante ter uma noção da escala de tamanho e das diferentes unidades de comprimento.

Quadro 1.3: Unidades de comprimento utilizadas

Unidade de comprimento	Símbolo	Equivalência
Micrômetro	μm	milésima parte do milímetro
Nanômetro	nm	milésima parte do micrômetro
Angstrom	Å	décima parte do nanômetro

Fonte: Raven et al, 2001

Unidades métricas usadas em microbiologia são: micrômetro e nanômetro.

Resumo

Nessa aula estudamos as áreas de atuação da microbiologia; os grupos de microrganismos e suas características; e os principais tipos de microscópios. Dentre os microrganismos daremos destaque nas próximas aulas às bactérias e aos fungos, em especial às leveduras.

Atividades de aprendizagem

1. O que estuda a microbiologia e qual a sua importância?

2. O que estuda a microbiologia básica? E a microbiologia aplicada?

3. Cite dois exemplos da utilização dos microrganismos em processos industriais.

4. Qual a diferença entre as eubactérias e as arqueobactérias?

5. Como são classificados os fungos?

6. Como é constituído o sistema de ampliação de um microscópio?

7. Se você estiver observando uma estrutura ao microscópio óptico em que a ocular fornece aumento de 10 vezes e a objetiva de 25 vezes, em quanto estará sendo aumentado o seu objeto de estudo?

8. Explique de forma simplificada, o que se consegue analisar utilizando um microscópio de campo claro e um microscópio de contraste de fase.

Aula 2 – A célula

"A honestidade foi e será sempre a arma decididamente mais forte para todas as lutas da humanidade que vive e progride".

Enrico Fermi

Objetivos

Compreender que as células são unidades fundamentais da vida.

Diferenciar células procariontes de células eucariontes.

2.1 Apresentação

As informações aqui apresentadas ajudarão você a compreender melhor que a célula é a unidade básica da vida, e entender as diferenças entre uma célula procarionte e uma célula eucarionte, que é de fundamental importância para o estudo dos microrganismos.

2.2 A célula: unidade fundamental da vida que se ligam ao DNA

A célula é a unidade estrutural e funcional dos organismos vivos, ou seja, todos os seres vivos são formados por células. Os menores são constituídos por uma única célula, os maiores por bilhões. A percepção de que todos os organismos são compostos por células foi um dos mais importantes avanços científicos. A palavra célula no sentido biológico foi usada, pela primeira vez, pelo cientista inglês Robert Hooke no século XVII.

As células surgem de outras células preexistentes. As formas mais simples de vida são células solitárias (organismos unicelulares), enquanto as formas superiores contêm associações de células, constituindo colônias de organismos unicelulares ou constituindo organismos pluricelulares mais complexos. As células podem apresentar estrutura e forma variadas.

membrana plasmática
Membrana que separa os conteúdos celulares do ambiente externo.

Todas as células compartilham dois aspectos essenciais. O primeiro é uma membrana externa, a **membrana plasmática**. O outro é o material genético (informação hereditária) que regula a atividade da célula, possibilitando a sua reprodução e a passagem das suas características para a sua descendência.

histonas
São proteínas que se ligam ao DNA.

A organização do material genético é uma das características que separa as células procariontes das células eucariontes. Nas células procariontes, o material genético (DNA) está na forma de uma grande molécula circular, conhecida como cromossomo. Em células eucariontes, o DNA é linear e fortemente ligado a proteínas especiais, conhecidas como **histonas**, formando certo número de cromossomos complexos.

As células dos microrganismos podem ser divididas em duas categorias: Células Eucarióticas apresentam um núcleo separado do citoplasma por uma membrana nuclear (carioteca); Células Procarióticas apresentam material nuclear sem membrana. Veja as Figuras 2.1, 2.2 e 2.3.

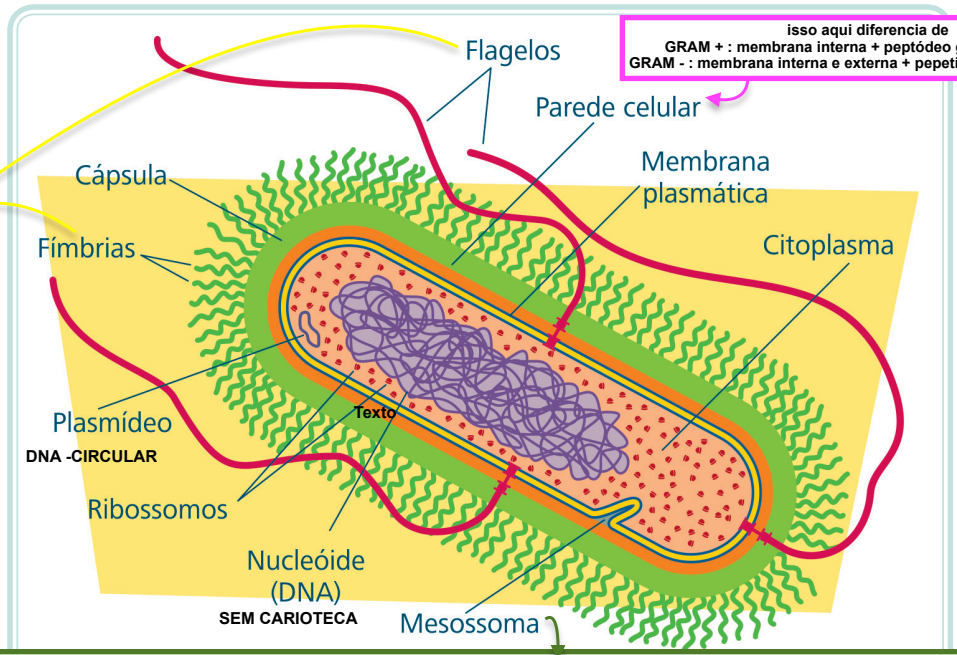


Figura 2.1: Célula bacteriana
Fonte: CTISM

Os procariontes consistem de duas linhagens distintas: **Bactéria** (ou eubactéria) e ***Archea***. São os menores organismos e os mais simples estruturalmente. Em termos evolutivos, eles são também os mais antigos organismos da Terra (foram encontrados fósseis de cerca de 3,5 bilhões de anos).

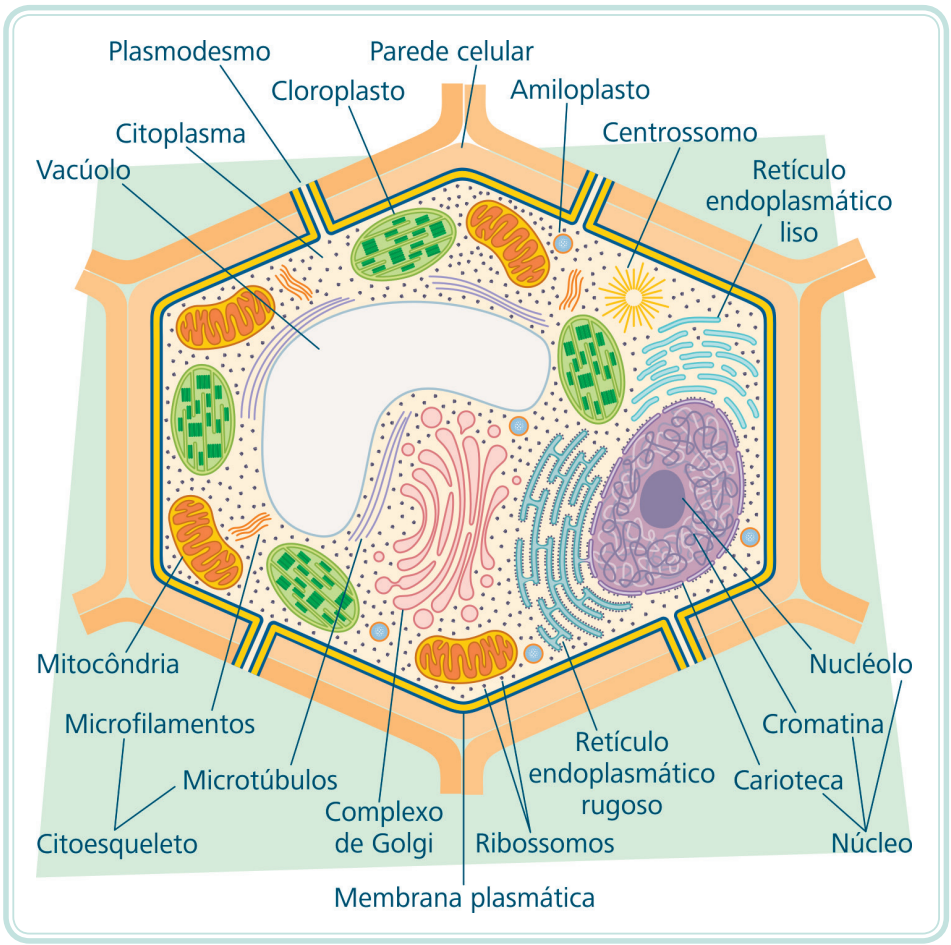


Figura 2.2: Célula vegetal
Fonte: CTISM

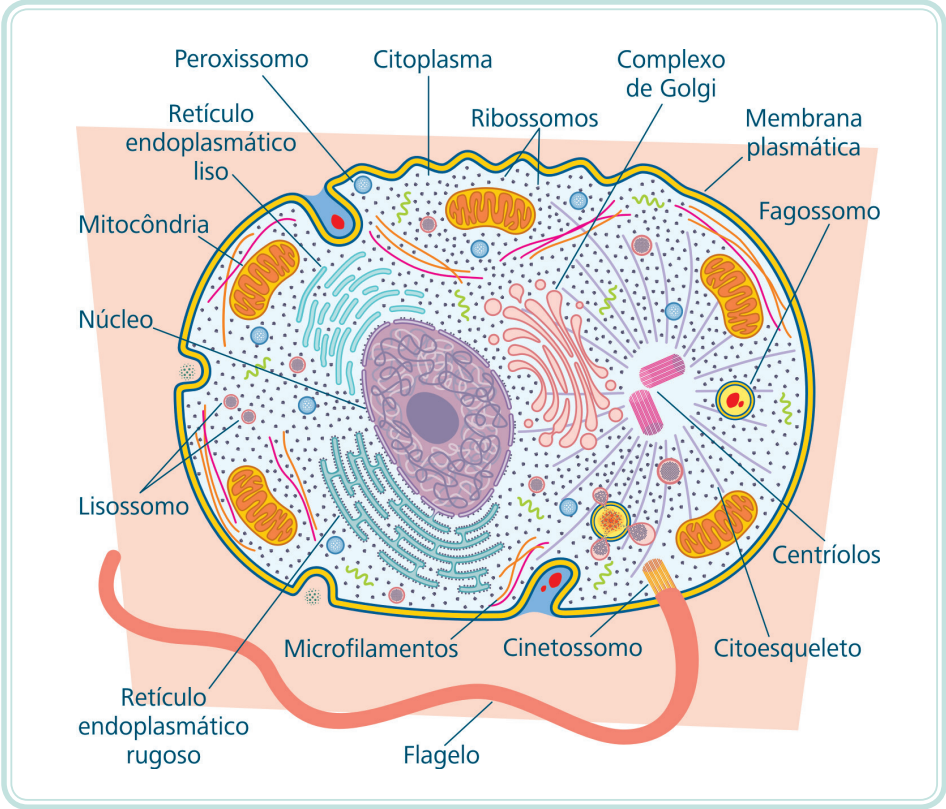


Figura 2.3: Célula animal
Fonte: CTISM

2.3 Diferenças entre organismos procariontes e eucariontes

O Quadro 2.1 apresenta as principais características das células de procariontes e de eucariontes.

Quadro 2.1: Diferenças entre células procariontes e células eucariontes

Características	Células procariontes	Células eucariontes
Grupos pertencentes	Bactérias e cianobactérias	Protozoários, algas, fungos, vegetais e animais
Tamanho da célula	0,2 - 5,0 µm	10 - 100 µm
Núcleo	Ausente – ausência de carioteca (membrana nuclear)	Presente – presença de carioteca (membrana nuclear)
Organelas membranosas	Ausentes	Presentes
Glicocálice ou glicocálise	Presente	Presente em células animais
Parede celular	Presente e complexa bioquimicamente (parede celular bacteriana típica apresenta peptidoglicano)	Quando presente é simples quimicamente (apenas plantas e fungos)
Ribossomos	Distribuídos no citoplasma	Distribuídos no retículo endoplasmático, na mitocôndria e no cloroplasto

A-Z

Glicocálice
Zona rica em carboidratos na superfície das células.

Características	Células procariontes	Células eucariontes
DNA	Cromossomo único, circular, sem histona	Cromossomos múltiplos, linear, com histona
Grupos pertencentes	Bactérias e cianobactérias	Protozoários, algas, fungos, vegetais e animais
Divisão celular	Fissão binária	Mitose e meiose

Fonte: Junqueira & Carneiro, 2005

2.4 Citoplasma

O citoplasma é o espaço intracelular (dentro da célula) preenchido por uma matriz semifluida que tem a consistência de gel, denominada hialoplasma, na qual está "mergulhado" tudo o que se encontra dentro da célula, tal como moléculas e organelas. O citoplasma é constituído principalmente de água (80%), mas também contém íons, sais minerais e moléculas, tais como proteínas, carboidratos e o RNA, que correspondem aos 20% restantes.

2.5 Organelas citoplasmáticas

Como vimos os organismos procariontes não possuem núcleo organizado e geralmente são pequenos. Caracterizam-se por não possuírem organelas envoltas por membranas, tais como o retículo endoplasmático, o complexo de Golgi, as mitocôndrias e os plastos. As células eucariontes são mais complexas e são típicas de protozoários, fungos, animais e vegetais.

Uma organela citoplasmática pode ser definida como uma determinada parte do citoplasma responsável por uma ou mais funções especiais. As organelas mais importantes estão citadas abaixo.

- Ribossomos
- Mitocôndrias
- Complexo de Golgi
- Centríolo
- Lisossomo
- Retículo endoplasmático liso

- Retículo endoplasmático rugoso
- Cloroplastos
- Flagelos

2.5.1 Ribossomos

São responsáveis pela síntese de proteína. Eles não são limitados por membranas e, portanto, ocorrem tanto em procariontes quanto em eucariontes. Os ribossomos de eucariontes são ligeiramente maiores que os de procariontes. Eles são compostos por duas subunidades de tamanhos diferentes. Bioquimicamente, o ribossomo consiste em RNA ribossômico (RNAr) e umas 50 proteínas estruturais. Veja na Figura 2.4.

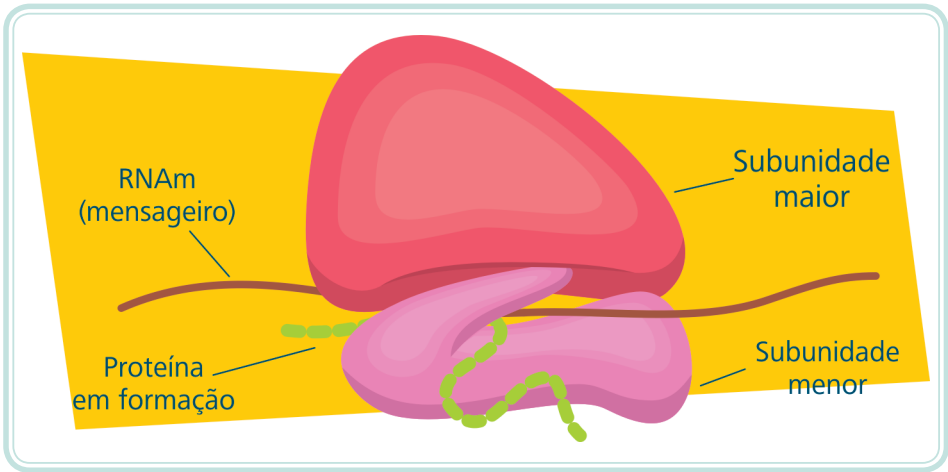


Figura 2.4: Estrutura de um ribossomo
Fonte: CTISM

2.5.2 Mitocôndrias

São formadas por duas membranas, uma externa e outra interna. Enquanto a membrana externa é lisa, a membrana interna possui inúmeras pregas, chamadas cristas mitocondriais. A cavidade interna das mitocôndrias é preenchida por um fluido, denominado matriz mitocondrial, que contém grande quantidade de enzimas dissolvidas, necessárias para a extração de energia dos nutrientes. Figura 2.5.

As mitocôndrias são de fundamental importância no processo de respiração celular e no fornecimento de energia a partir da quebra da glicose.

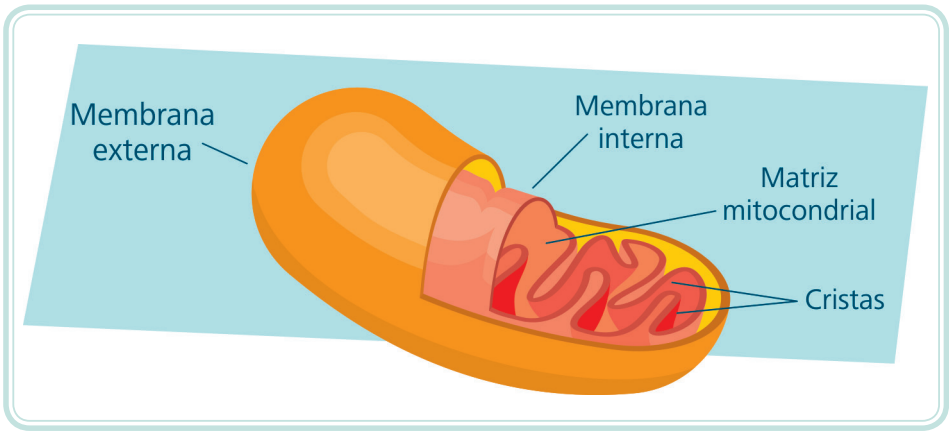


Figura 2.5: Estrutura de uma mitocôndria
Fonte: CTISM

2.5.3 Complexo de Golgi

São estruturas membranosas, formadas por bolsas achatadas e empilhadas cuja função é elaborar e armazenar proteínas advindas do retículo endoplasmático. É abundante em células secretoras. Figura 2.6.

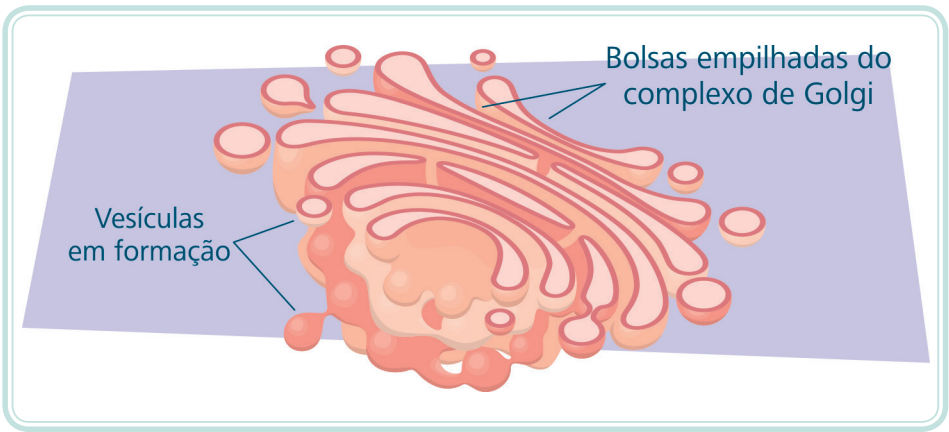


Figura 2.6: Estrutura do complexo de Golgi
Fonte: CTISM

2.5.4 Centríolos

É formado por um par de cilindros cuja parede é constituída por nove conjuntos de três microtúbulos cada, e, geralmente, ocorrem aos pares nas células. Os centríolos são desprovidos de membrana, sua constituição é de natureza protéica. Os centríolos originam estruturas locomotoras, denominadas cílios e flagelos, que diferem entre si quanto ao comprimento e número por célula. Figura 2.7.

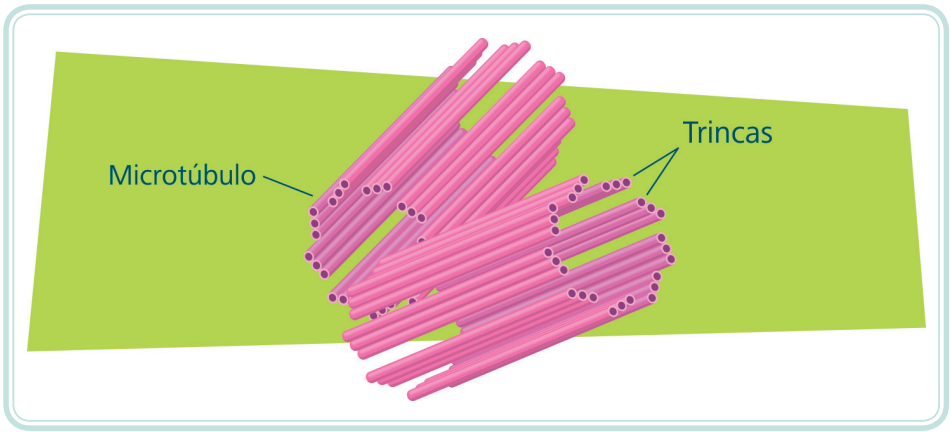


Figura 2.7: Estruturas dos centríolos
Fonte: CTISM

2.5.5 Lisossomos

São pequenas bolsas portadoras de enzimas digestivas. Elas são liberadas pelo complexo de Golgi, com a finalidade de promover a digestão de substâncias englobadas pelas células. Pode também digerir componentes da própria célula, promovendo a morte celular para uma contínua renovação. Figura 2.8.

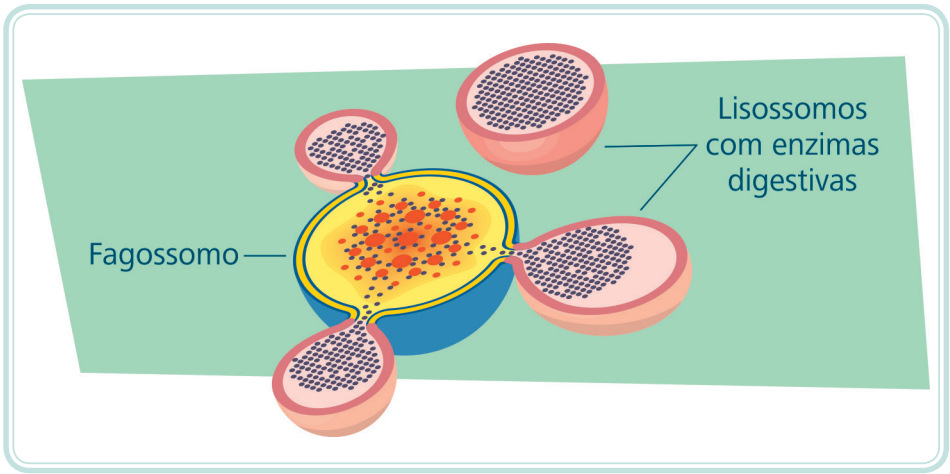


Figura 2.8: Ação dos lisossomos
Fonte: CTISM

2.5.6 Retículo endoplasmático liso

É uma rede de estruturas tubulares e vesiculares a*chat*adas e interligadas formada por uma membrana dupla, amplamente distribuída pela célula e em comunicação com a membrana plasmática ou com a carioteca. Não apresenta ribossomos aderidos à membrana externa. É responsável pela síntese de todos os lipídios que constituem a membrana plasmática, incluindo fosfolipídios e colesterol. Figura 2.9.

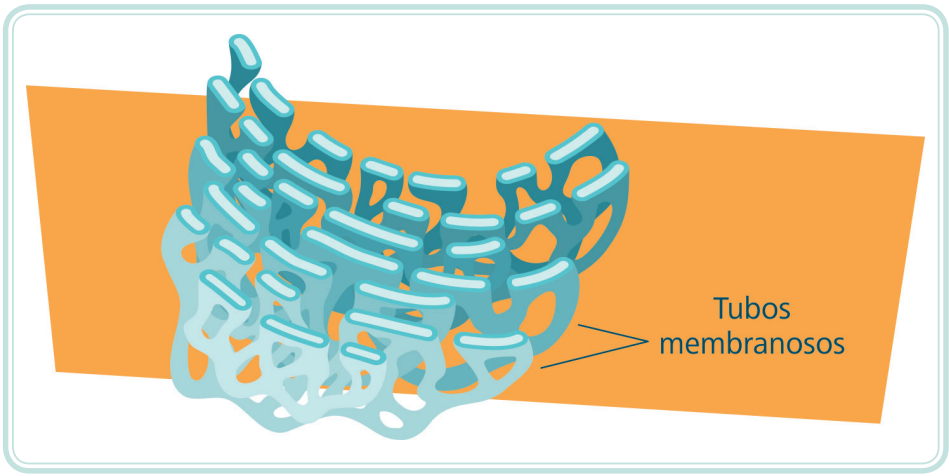


Figura 2.9: Representação do retículo endoplasmático liso
Fonte: CTISM

2.5.7 Retículo endoplasmático rugoso

De formato achatado e com ribossomos aderidos, o retículo endoplasmático rugoso está presente em maior número nas células especializadas na secreção de proteínas. Figura 2.10.

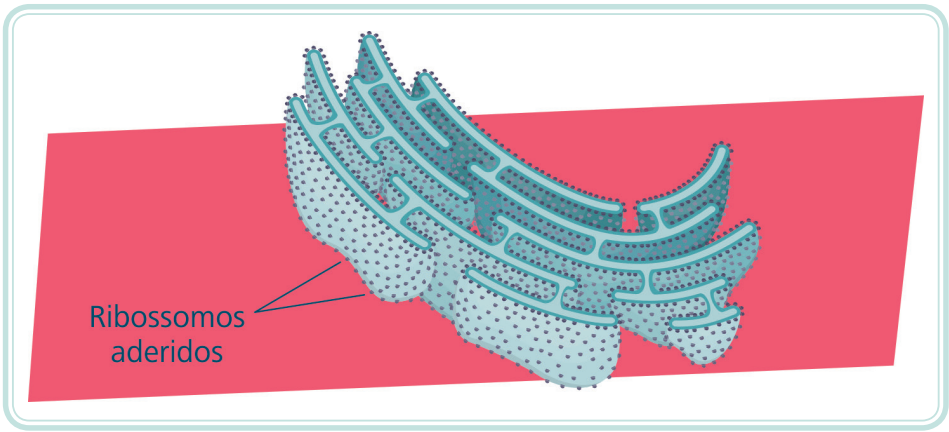


Figura 2.10: Representação do retículo endoplasmático rugoso
Fonte: CTISM

2.5.8 Cloroplasto

São delimitadas por duas membranas lipoprotéicas uma externa lisa e outra interna que forma dobras para o interior da organela. Esse conjunto bem organizado de membranas formam pilhas unidas entre si, chamadas de grana. Cada elemento da pilha, que tem o formato de moeda, é o tilacóide. Todo esse conjunto de membranas encontra-se mergulhado em um fluído gelatinoso que preenche o cloroplasto, o estroma, onde há enzimas, DNA, pequenos ribossomos e amido. As moléculas de clorofila localizam-se nas membranas

dos tilacóides, tal sistema é, portanto, a sede das reações fotoquímicas responsáveis pela captação e transformação da energia luminosa em energia química.

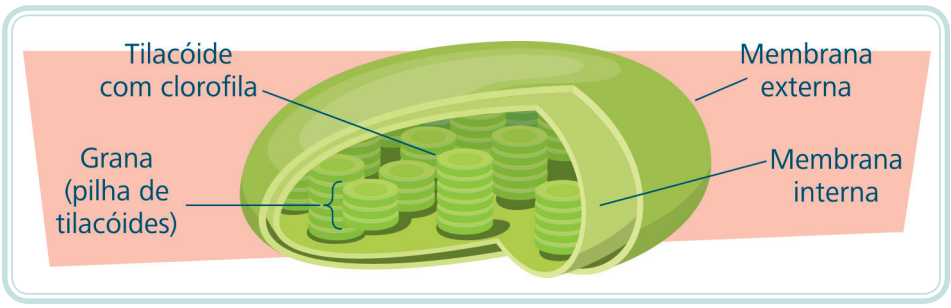


Figura 2.11: Partes do cloroplasto
Fonte: CTISM

2.5.9 Flagelos

Os flagelos das bactérias (procariontes) são compostos por uma proteína chamada flagelina, os de eucariontes, são extensões filamentosas citoplasmática, frequentes em protozoários, esponjas e gametas móveis. O flagelo de eucarionte é completamente diferente do flagelo bacteriano, tanto em termos de estrutura como em origem evolucionária, mas a função em ambos é a mesma: criar movimentos.

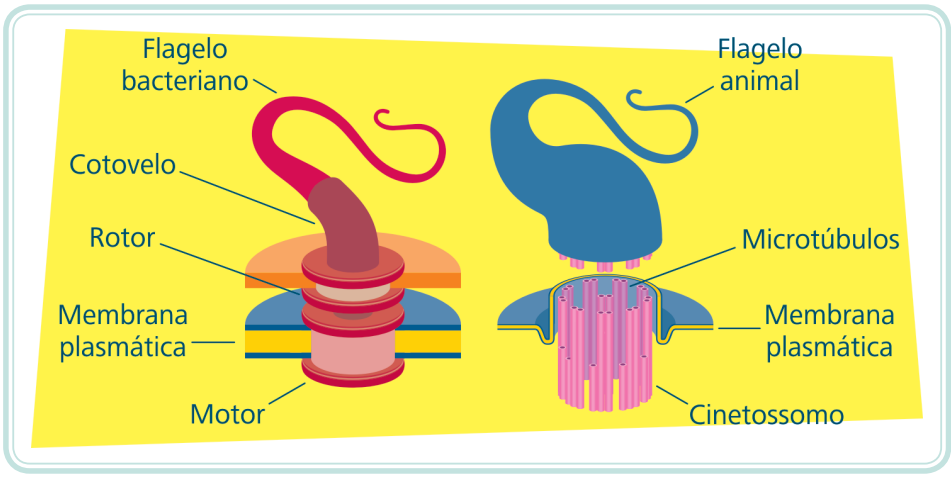
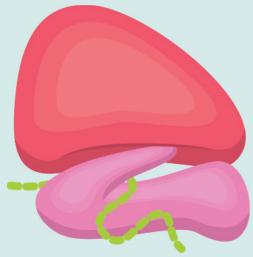
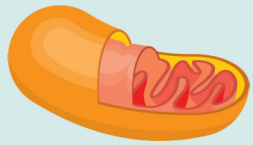
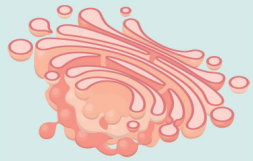
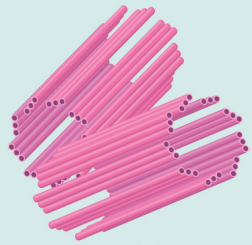


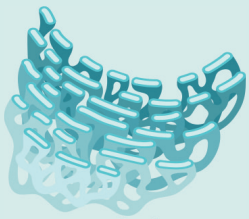
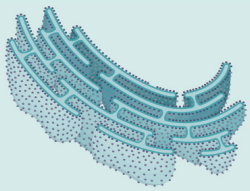
Figura 2.12: Diferenças entre flagelos bacterianos e flagelos animais
Fonte: CTISM

No Quadro 2.2, verifique as principais estruturas celulares, suas funções e ocorrências.

Quadro 2.2: Organelas citoplasmáticas

Organela	Função	Procarionte	Eucarionte
 Ribossomos	Responsável pela síntese (produção) de proteínas	Presente	Presente
 Mitocôndria	Responsável pela respiração celular	Ausente	Presente
 Complexo de Golgi	Armazena e secreta diversas substâncias	Ausente	Presente
 Centríolos	Atua na divisão celular	Ausente	Presente, exceto em vegetais e fungos
Lisossomos	Digestão intracelular	Ausente	Presente

Quadro 2.2: Organelas citoplasmáticas

Organela	Função	Procarionte	Eucarionte
 Retículo endoplasmático liso	Transporte de substâncias e produção de **esteróides**	Ausente	Presente
 Retículo endoplasmático rugoso	Transporte de substâncias e síntese de proteínas	Ausente	Presente
Cloroplasto	Atua na fotossíntese	Ausente	Presente em vegetais e algas
Flagelos	Deslocamento celular	Presente	Presente apenas em animais (gametas)

A-Z

esteróides
São hormônios responsáveis pela harmonia das funções no organismo.

Para saber mais sobre célula como unidade biológica, acesse: http://www.portalsaofrancisco.com.br/alfa/citologia/citologia-3.php

Resumo

Nessa aula estudamos a célula, unidade fundamental dos seres vivos. Vimos que as células dos microrganismos podem ser procariontes (não apresentam núcleo definido) ou eucariontes (com núcleo definido). Além disso, também estudamos as principais diferenças entre esses tipos celulares.

Atividades de aprendizagem

1. Defina células procariontes e células eucariontes.

2. Quais as principais diferenças entre uma célula procarionte e uma eucarionte?

3. Que grupos pertencem aos procariontes? E aos eucariontes?

4. Qual a constituição do citoplasma da célula?

5. Qual organela citoplasmática está presente nos procariontes?

6. Qual a diferença entre o DNA dos procariontes e o DNA dos eucariontes?

7. Quais as duas linhagens de procariontes?

8. Qual a constituição do citoplasma?

9. As bactérias são seres procariontes por que:

a) Podem apresentar "formas de resistência" que são os esporos.

b) Possuem uma parede celular espessa, constituída de polissacarídeos, proteínas e lipídios.

c) Não possuem núcleo organizado envolto pela carioteca.

d) Possuem estruturas locomotoras denominadas flagelos.

e) Podem reproduzir-se sexuadamente por conjugação.

10. Numere os elementos da coluna da direita com os seus correspondentes da coluna da esquerda.

Estrutura celular	Função
(1) Retículo endoplasmático liso	(3) Responsável pela respiração aeróbica.
(2) Lisossomo	(5) Responsável pela síntese de proteínas.
(3) Mitocôndria	(1) Responsável pelo transporte de substâncias e produção de esteróides.
(4) Aparelho Golgiense	(2) Promove a digestão intracelular.
(5) Ribossomo	(6) Mantém a seletividade das células.
(6) Membrana plasmática	(__) Realiza síntese e transporte de substâncias.

Retículo endoplasmático RUGOSO

Aula 3 – Bactérias: morfologia e estruturas

"O que sabemos é uma gota,
o que ignoramos é um oceano".

Isaac Newton

Objetivos

Conhecer as bactérias: seu tamanho e sua morfologia.

Compreender as estruturas das células bacterianas.

Entender e diferenciar bactérias Gram-positivas de Gram-negativas.

Identificar estruturas da membrana e do citoplasma bacteriano.

3.1 Apresentação

As análises das características morfológicas das bactérias são importantes para classificação preliminar e para o conhecimento de algumas propriedades importantes do ponto de vista industrial.

3.2 Bactérias

São organismos unicelulares. Podem ser encontrados de forma isolada ou em colônias; são constituídos por uma célula (unicelulares), não possuem núcleo celular definido (procariontes) e não possuem organelas membranosas.

3.3 Morfologia: tamanho, forma e arranjos bacterianos

As bactérias são variáveis quanto ao tamanho e quanto às formas que apresentam.

3.3.1 Tamanho bacteriano

A unidade de medida das bactérias é o μm (micrômetro) que equivale a 10^3 mm.

Muitas bactérias medem de 2 a 6 μm de comprimento e 1 a 2 μm de largura.

Tamanho variável: 0,1 – 0,2 μ → 5,0 μm

3.3.2 Morfologia das bactérias: formas e arranjos bacterianos

Embora existam milhares de espécies bacterianas, elas podem ser agrupadas em três tipos morfológicos gerais: **cocos**, **bacilos** e **espiralados**.

a) **Formas de cocos** (esféricas) – é o grupo de bactérias mais homogêneo em relação ao tamanho. Os cocos tomam denominações diferentes de acordo com o seu arranjo (Figura 3.1).

- **Micrococos** – cocos.
- **Diplococos** – cocos agrupados aos pares.
- **Tétrades** – agrupamentos de quatro cocos.
- **Sarcina** – agrupamentos de oito cocos em forma cúbica.
- **Estreptococos** – cocos agrupados em cadeias.
- **Estafilococos** – cocos agrupados em grupos irregulares, lembrando cachos de uva.

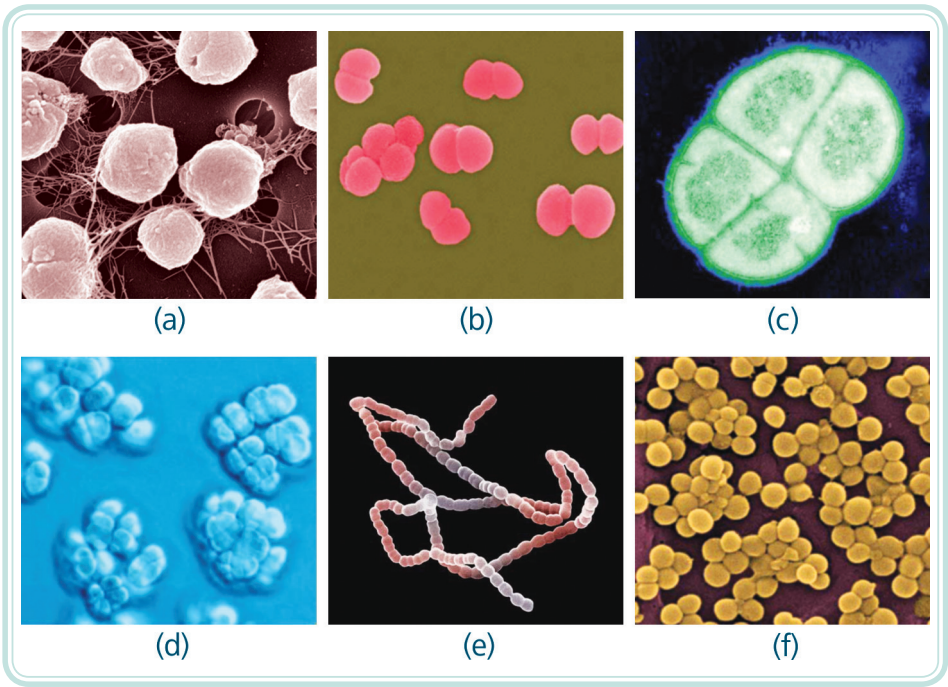


Figura 3.1: Diferentes arranjos de bactérias esféricas (cocos): (a) Coco: *Methanococcus sp*; (b) Diplococo: *Neisseria sp* (gonococo); (c) Tétrade: *Deinococcus sp*; (d) Sarcina: *Methanosarcina sp*; (e) Estreptococo: *Streptococcus sp* e (f) Estáfilococo: *Staphylococcus sp*

Fonte: (a) http://microbewiki.kenyon.edu/images/2/22/methanococcus_6.gif
(b) http://student.ccbcmd.edu/courses/bio141/labmanua/lab1/dkngon.html
(c) http://fpslivroaberto.blogspot.com/2009_08_01_archive.html
(d) http://faculty.ksu.edu.sa/3822/picture%20library%2002/forms/allitems.aspx
(e) http://www.britannica.com/ebchecked/topic/48203/bacteria/39338/capsules-and-slime-layers?anchor=toc39338
(f) http://staphylococcusaureustreatment.com

b) Forma de bastonete – são células cilíndricas em forma de bastonete; apresentam grande variação na forma e no tamanho entre gêneros e espécies (Figura 3.2).

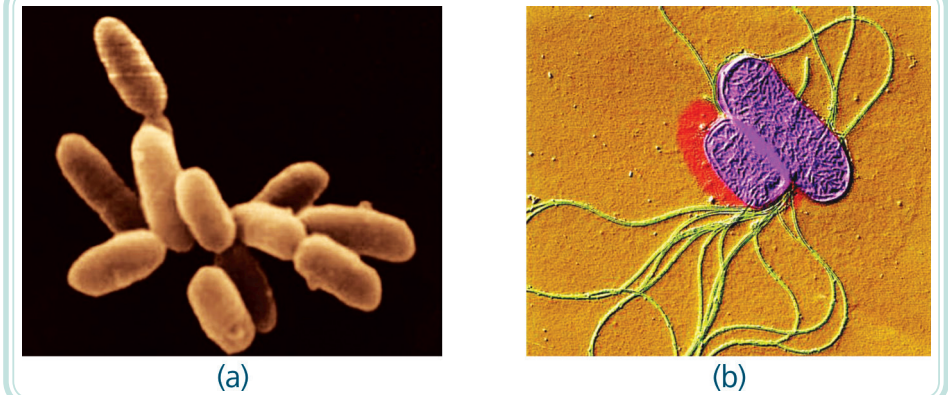


Figura 3.2: Exemplos de bastonetes: (a) *Halobacterium* e (b) *Salmonella*, causadora de aguda infecção intestinal em humanos

Fonte: (a) http://www.foxnews.com/scitech/2010/05/07/aliens-saturn-titan/
(b) http://www.icb.ufmg.br/big/vacinas/Salmonella.htm

As células bacterianas cilíndricas ou em bastonetes (bacilos) não apresentam a mesma disposição dos cocos, mas podem apresentar-se isolados, aos pares (diplobacilos) e em cadeias (estreptobacilos). Em alguns casos esses arranjos não constituem padrões morfológicos característicos, mas é devido às etapas de crescimento ou às condições de cultivo.

De um modo geral, essas duas formas de bactérias (cocos e bacilos) são as mais comuns entre as contaminantes nas indústrias de açúcar e de álcool.

c) Formas espiraladas – caracterizadas por células em espiral; dividem-se em:

- **Espirilos** – possuem corpo rígido e movem-se à custa de flagelos externos. Ex.: Gênero *Aquaspirillium* (Figura 3.3).

- **Espiroquetas** – são flexíveis e locomovem-se geralmente por contrações do citoplasma, podendo dar várias voltas completas em torno do próprio eixo. Ex.: Gênero *Treponema* (Figura 3.3).

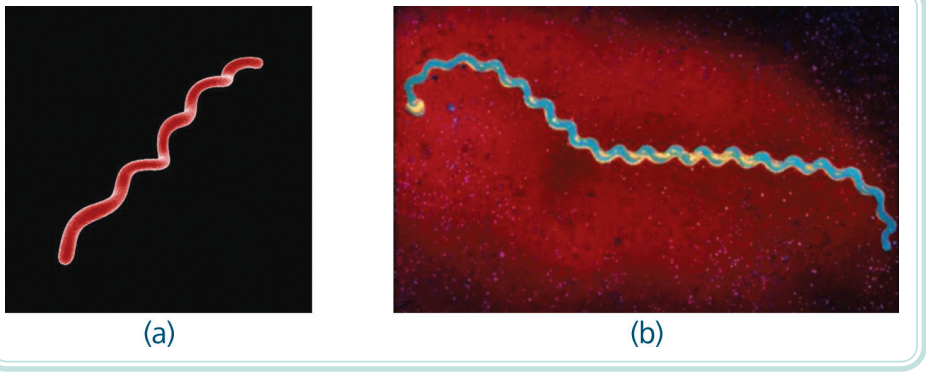


Figura 3.3: Exemplos de bactérias com formas espiraladas: (a) espirilo e (b) espiroqueta *Leptospira interrogans*, causadora da leptospirose
Fonte: (a) http://mikroby.blox.pl/html/1310721,262146,21.html?341847
(b) http://mac122.icu.ac.jp/gen-ed/higher-plants-etc.html

Observação
Além desses três tipos morfológicos, existem algumas formas de transição (Figura 3.4).

- Bacilos muito curtos: cocobacilo. exemplo - Bordetella pertussis coqueluche

- Unidades celulares que se assemelham a uma vírgula: vibrião.

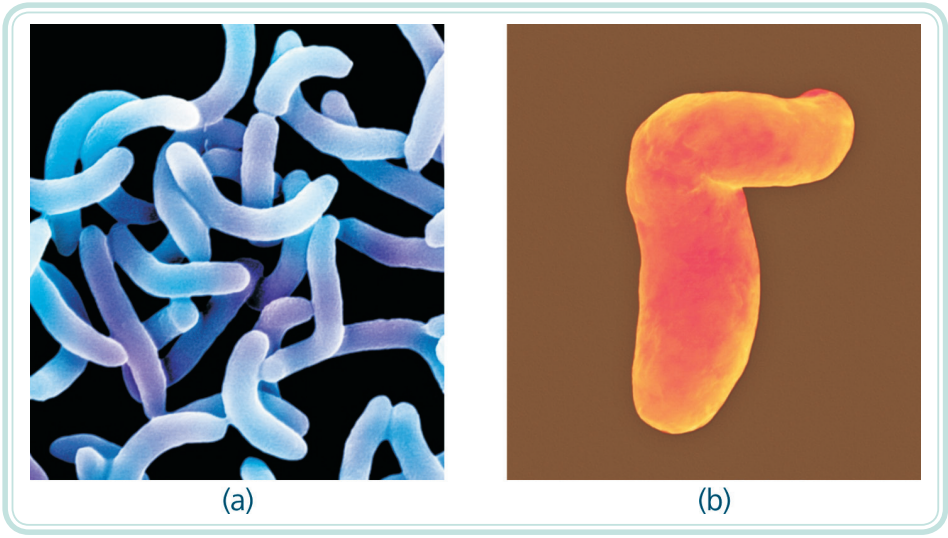


Figura 3.4: Formas bacterianas de transição: exemplos de vibriões (a) *Vibrio cholerae*, causador da cólera em humanos e (b) *Vibrio vulnificus*, agressiva bactéria carnívora
Fonte: (a) e (b) http://visualsunlimited.photoshelter.com

3.4 Estruturas externas da célula bacteriana

O tamanho, a forma e o arranjo das bactérias constituem sua morfologia, sua aparência externa; a observação interna das estruturas celulares permite conhecer um pouco o funcionamento da bactéria no ambiente.

3.4.1 Parede celular

A parede celular é uma estrutura rígida que está presente em quase todas as bactérias e localiza-se acima da membrana citoplasmática. Ela contém **polímeros** complexos conhecidos como peptidioglicanos, que são responsáveis pela sua rigidez. A parede celular impede que a célula estoure em decorrência do grande turgor, atua como uma barreira de proteção contra determinados agentes químicos e físicos externos e funciona como suporte de antígenos somáticos bacterianos.

A-Z

polímeros
Macromoléculas formadas a partir de unidades estruturais menores.

As bactérias podem ser divididas em dois grandes grupos, com base na capacidade de suas paredes celulares fixarem o corante violeta cristal: as Gram-positivas (que coram em roxo) e as Gram-negativas (que coram em vermelho).

A parede celular de bactérias Gram-positivas é composta basicamente por peptideoglicano, que constitui uma espessa camada ao redor da célula. Outros polímeros, tais como ácidos lipoteicóicos e polissacarídeos, também podem estar presentes nessa camada (Figura 3.5).

A-Z

delgada (ou delgado)
Fina ou fino

Nas bactérias Gram-negativas o peptideoglicano constitui uma camada basal **delgada**, sobre a qual se encontra outra camada, denominada membrana externa que é composta por lipoproteínas, fosfolipídios, proteínas e lipopolissacarídeos (Figura 3.6). O processo de coloração de Gram consiste basicamente em tratar bactérias sucessivamente com cristal violeta, lugol, álcool e fucsina (Figura 3.7). O cristal violeta e o lugol penetram tanto nas bactérias Gram-positivas quanto nas Gram-negativas, formando um complexo de cor roxa. O tratamento com álcool é a etapa diferencial; nas Gram-positivas, o álcool não retira o complexo cristal violeta+lugol, pois a sua ação desidratante faz com que a espessa camada de peptideoglicano torne-se menos permeável, retendo o corante. Nas Gram-negativas, devido à pequena espessura da camada de peptideoglicano, o complexo corado é extraído pelo álcool, deixando as células descoradas. O tratamento com fucsina não altera a cor roxa das Gram-positivas, ao passo que as Gram-negativas descoradas pelo álcool tornam-se avermelhadas (Figura 3.7).

A coloração de Gram é amplamente utilizada para identificar e classificar bactérias.

O processo de **coloração de Gram** é usado para classificar as bactérias em **Gram-positivas** ou **Gram-negativas**, conforme fixam ou não o corante. Essa classificação é importante, pois as bactérias Gram-positivas são mais sensíveis à penicilina e à sulfa. Este processo de coloração é um dos mais importante métodos realizados em laboratório de microbiologia.

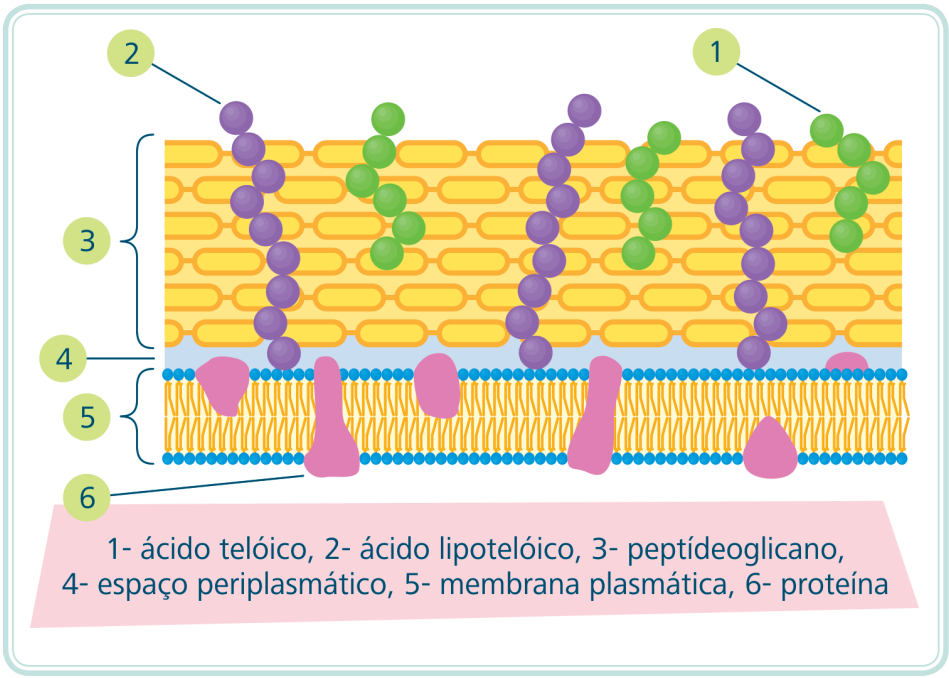


Figura 3.5: Parede celular de bactéria Gram-positiva
Fonte: CTISM

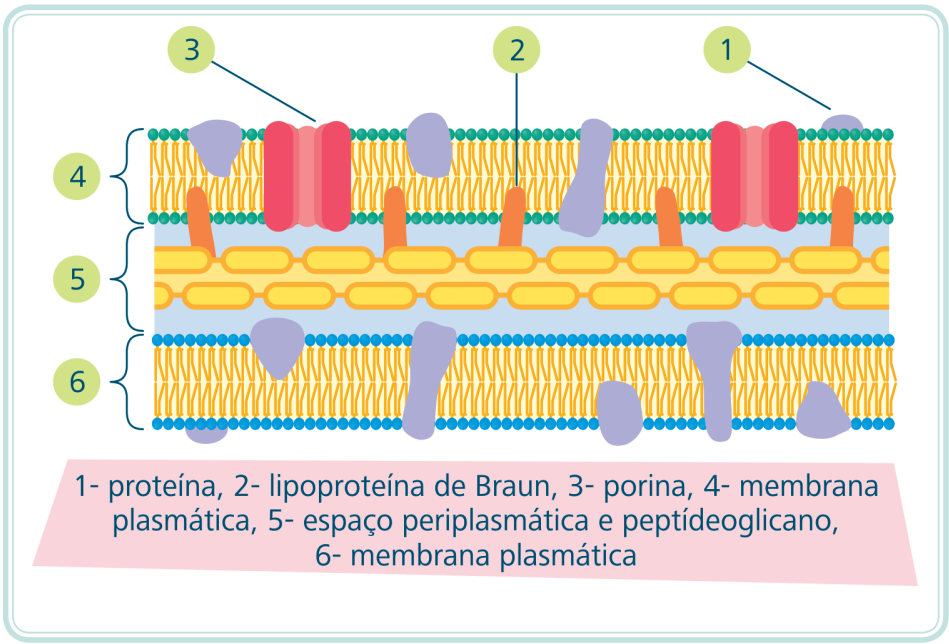


Figura 3.6: Parede celular de bactéria Gram-negativa
Fonte: CTISM

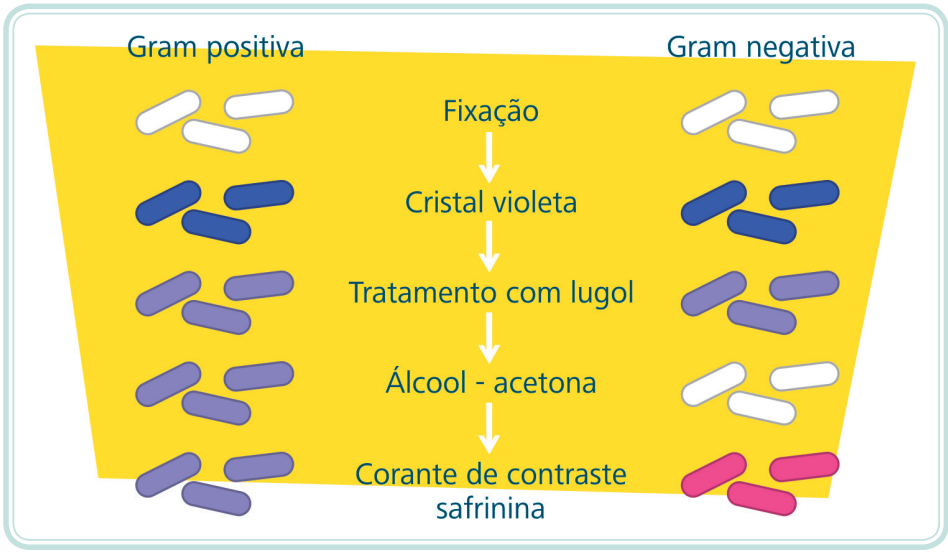


Figura 3.7: Processo de coloração do Gram
Fonte: Adaptado de http://pathmicro.med.sc.edu/fox/gram-st.jpg

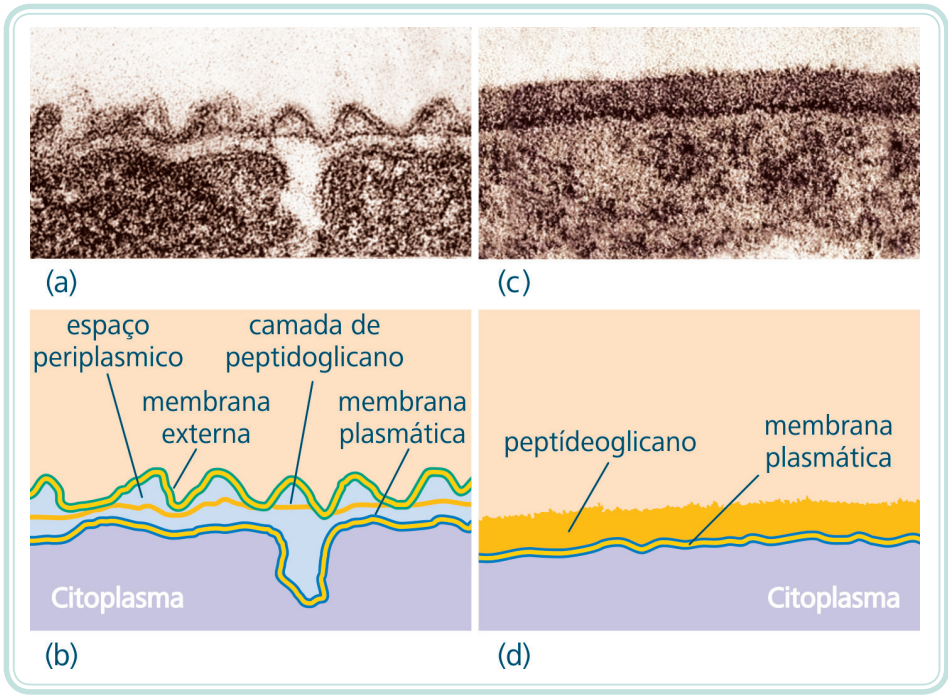


Figura 3.8: (a) Micrografia da parede celular de bactéria Gram-negativa; (b) indicação de suas partes; (c) micrografia da parede celular de bactéria Gram-positiva e (d) indicação de suas partes
Fonte: (a) e (c) http://visualsunlimited.photoshelter.com
(b) e (d) CTISM

3.4.2 Flagelos

São organelas especiais (apêndices delgados) responsáveis pela locomoção das bactérias. De acordo com o número e distribuição dos flagelos, as bactérias podem ser classificadas como: atríquias (sem flagelos), monotríquias (um único flagelo), anfitríquias (um flagelo em cada extremidade), lofotríquias (um tufo

de flagelos em uma, ou ambas as extremidades) e peritríquias (apresentando flagelos ao longo de todo o corpo bacteriano), veja Figura 3.9.

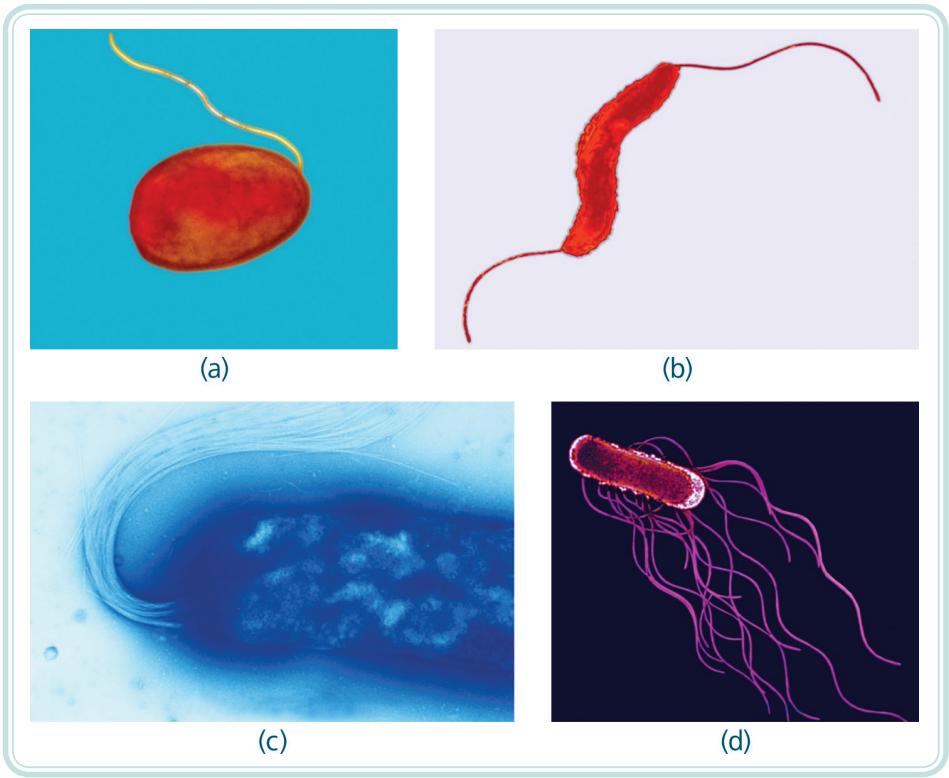


Figura 3.9: Exemplos de bactérias com flagelos: (a) monotríquia *Pseudomonas aeruginosa*; (b) anfitríquia *Fetus venerealis*; (c) lofotríquia *Spirillum volutans* e (d) peritríquia *Salmonella*
Fonte: (a), (b), (c) e (d) http://visualsunlimited.photoshelter.com

Algumas bactérias movimentam-se por outros meios, diversos da atividade flagelar, tais como o deslizamento provocado pelo fluxo protoplasmático ou pela resposta táxica (fototaxia, quimiotaxia).

3.4.3 Pêlos (fímbrias)

São apêndices finos, retos e curtos que estão presentes em muitas bactérias Gram-negativas. São encontrados tanto nas espécies móveis como nas imóveis e, portanto, não desempenham papel relativo à mobilidade. Os pêlos originam-se de corpúsculos basais na membrana citoplasmática e sua função parece estar relacionada com a troca de material genético durante a conjugação bacteriana (fímbria sexual) com a aderência às superfícies mucosas. As fímbrias podem ser removidas sem comprometimento da viabilidade celular e regeneram-se rapidamente (Figura 3.10).

Diferença entre fímbrias e flagelos? As fímbrinas são estruturas filamentosas presentes na superfície de muitas bactérias. Elas funcionam principalmente como "braços" que ajudam a bactéria a se fixar em superfícies, células ou outros microrganismos, mas diferente do flagelos ela não agem sobre a locomoção.

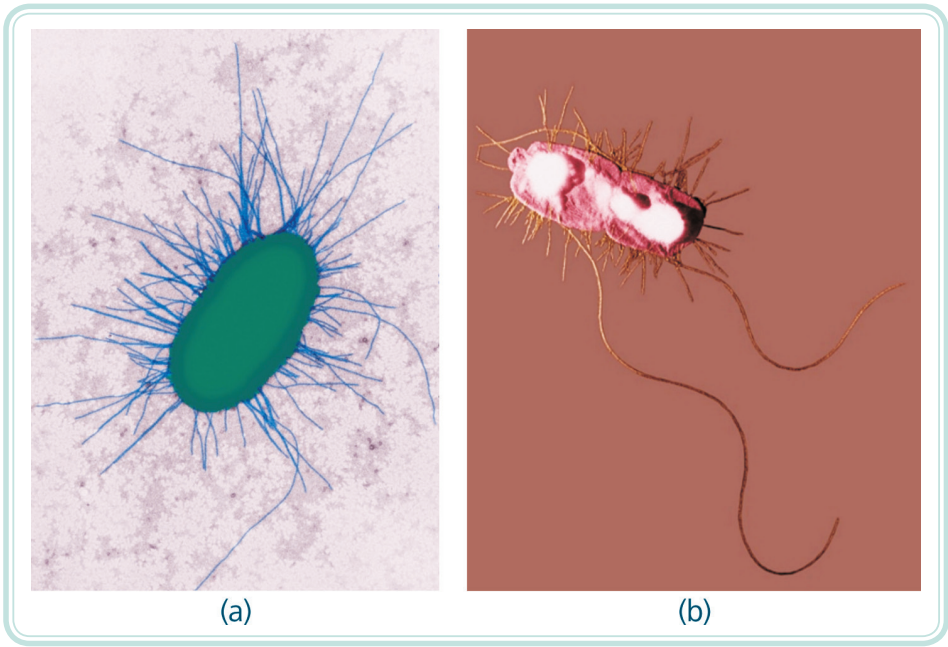


Figura 3.10: Exemplos de bactérias fimbriadas: (a) bactéria *Escherichia coli* recoberta de fímbrias e (b) com fímbrias e flagelos
Fonte: (a) e (b) http://visualsunlimited.photoshelter.com

3.4.4 Glicocálice

É formado por uma substância mucilaginosa ou gelatinosa (viscosa) e fica ligada à parede celular como um revestimento externo. Se o glicocálice estiver organizado de maneira definida e acoplado firmemente à parede celular, recebe o nome de **cápsula** (Figura 3.11); se estiver desorganizado e sem qualquer forma frouxamente acoplada à parede celular, recebe o nome de **camada limosa**. O glicocálice pode ser de natureza polissacarídica (um ou vários tipos de açúcares como galactose, ramnose, glicana, etc.) ou polipeptídica (ácido glutâmico). O glicocálice desempenha papel importante na infecção, permitindo que a bactéria patogênica se ligue a tecidos específicos do hospedeiro. Acredita-se que o glicocálice possa proteger as bactérias da dessecação.

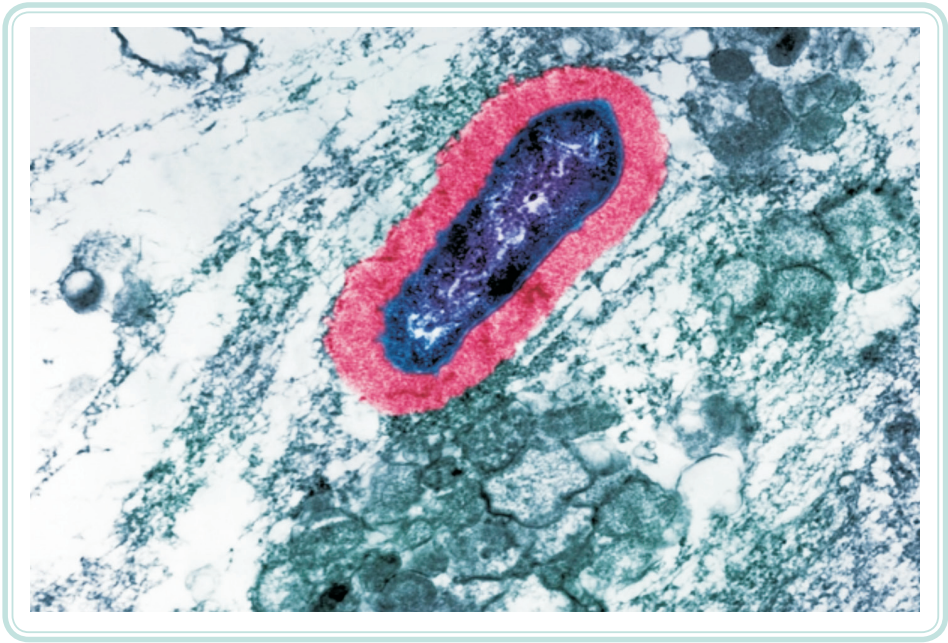


Figura 3.11: Micrografia eletrônica com destaque para a cápsula de uma bactéria
Fonte: http://visualsunlimited.photoshelter.com

3.5 Membrana plasmática – modelo mosaico fluido

Fina membrana que separa a parede celular do citoplasma. Sua espessura é da ordem de 7,5 nanômetros e é composta principalmente por uma bicamada de fosfolipídeos (20 a 30%) e proteínas (50 a 70%); desempenha importante papel na permeabilidade seletiva da célula (Figura 3.12). A membrana é o sítio da atividade enzimática específica e do transporte de moléculas para dentro e para fora da célula.

Para saber mais sobre estrutura de membrana, acesse: http://vsites.unb.br/ib/cel/microbiologia/morfologia1/morfologia1.html#ultraestrutura

DIFERENÇA DA MEMBRANA PROCARIÓTICA X EUCARIÓTICA

Ela difere da membrana plasmática das células eucarióticas por:

- não apresentar esteróides em sua composição;
- ser sede de numerosas enzimas do metabolismo respiratório das bactérias (mesmas funções das cristas mitocondriais);
- controlar a divisão bacteriana através dos **mesossomos**.

Os **mesossomos** são invaginações da membrana plasmática que podem ser simples dobras ou estruturas tubulares ou vesiculares. Alguns autores associam ainda aos mesossomos o valor funcional das mitocôndrias, atribuindo a eles o papel na respiração bacteriana.

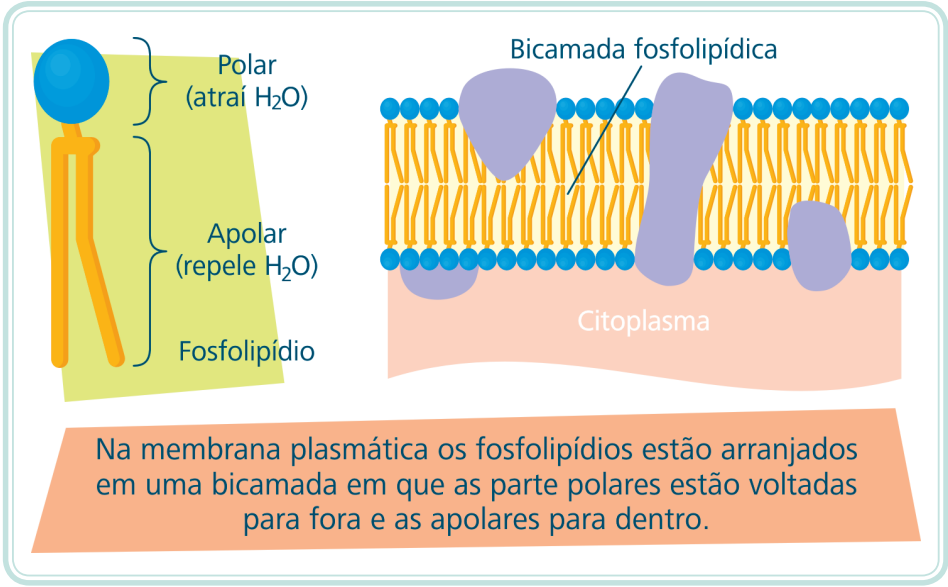


Figura 3.12: Representação esquemática da membrana plasmática
Fonte: CTISM

3.6 Estruturas internas da célula bacteriana

3.6.1 Citoplasma

É composto pela porção fluida e contém substâncias dissolvidas e partículas, tais como ribossomos, e material nuclear ou nucleóide, rico em DNA.

Para saber mais sobre morfologia da membrana, acesse: http://vsites.unb.br/ib/cel/microbiologia/morfologia3/morfologia3.html

3.6.2 Inclusões citoplasmáticas

As inclusões são formações não vivas existentes no citoplasma, como grãos de amido, gotas de óleo, chamadas de grânulos, e podem servir como fonte de material de reserva ou energia.

3.6.3 Nucleóide e plasmídeos

As células bacterianas não contêm o núcleo típico das células animais e vegetais. O cromossomo bacteriano consiste de um cromossomo único e circular e ocupa uma posição próxima ao centro da célula. Pode ser chamado de nucleóide. Várias bactérias apresentam também moléculas de DNA extracromossomal, denominadas plasmídeos, as quais são geralmente circulares, contendo muitas vezes genes que conferem características adaptativas vantajosas ao microrganismo.

As bactérias são importantes nos processos biotecnológicos – na indústria, agricultura e na medicina.

Resumo

Ao final dessa aula compreendemos a morfologia e a estrutura das células bacterianas. Na aula seguinte, abordaremos os processos de reprodução, nutrição e crescimento, fundamentais nas indústrias que utilizam os potenciais microbiológicos.

Atividades de aprendizagem

1. Qual o conceito de bactérias?

Bactérias são organismos microscópicos, unicelulares procariotas, que fazem parte do reino Monera.

2. Qual a unidade utilizada para medir as bactérias?

micrometros

3. Como as bactérias são divididas quanto à forma e ao arranjo?

4. De acordo com a parede celular bacteriana, como as bactérias são classificadas?

cocos : diplococos, tetracocos, sarcina, estreptococos stafilococus
cocobacilo: diplococos, estreptococos stafilococus
bacilos ou bastonetes: diplobacilo e estreptobacilo
vibrião
espiralados

5. Qual a principal substância que compõe a parede celular das bactérias? Peptídeoglicano
Qual sua função e como podemos diferenciar a parede celular de bactérias Gram+ das Gram-?

ela fornece estrutura, proteção e forma à bactéria.

Gram + espessa camada de Peptídeoglicano
Gram - delgada camada de Peptídeoglicano + possui membrana externa
Diferencia pela coloração com cristais violeta + lugol —> lavado com álcool e as gram + ficam
gram - descoloram + corante Safrinina que as cora de

6. De acordo com o número e distribuição dos flagelos, como as bactérias podem ser classificadas?

atriquias
monotriquias
anfitriquias
lofotriquias
peritriquias

7. Qual a função dos pêlos nas bactérias?

sexual
e fixação em superfícies

8. Qual a função do glicocálice?

compõem a cápsula ou a camada limosa que confere proteção á bactérias

9. O que compõe a membrana citoplasmática das bactérias? O que a diferencia da membrana citoplasmática das células eucarióticas?

Nos procarióts a membrana não tem esteróides
A membrana possue enzimas que permitem respiração celular = mitocondrias dos eucariotos
Pelo mesossomas (invaginações na membrana) controla d divisão celular - fisão

10. Cite e comente as estruturas internas da célula bacteriana.

Aula 4 – Bactérias: reprodução, nutrição e crescimento

"A diferença entre o possível e o impossível está na vontade humana".

Louis Pasteur

Objetivos

Compreender os tipos de reprodução bacteriana.

Conhecer as formas de obtenção de energia das bactérias.

Entender e diferenciar macro de micronutrientes.

Compreender as fases da curva de crescimento das bactérias.

Compreender os fatores que limitam o crescimento das bactérias.

4.1 Apresentação

A divisão dessas aulas (3 e 4) em duas partes deve-se ao grande volume de informações exigido para compreender a morfologia e a fisiologia das bactérias. Nessa aula veremos os processos reprodutivos, de nutrição e do crescimento bacteriano.

4.2 Reprodução bacteriana

As bactérias geralmente reproduzem-se assexuadamente por fissão binária ou cissiparidade. Nesse processo reprodutivo ocorre à replicação do cromossomo e uma única célula divide-se em duas; em seguida ocorre a divisão do cromossomo bacteriano replicado e o desenvolvimento de uma parede celular transversal (Figura 4.1). A fissão binária não é o único método reprodutivo assexuado entre as bactérias. Também pode ocorrer esporulação e brotamento.

Para saber mais sobre reprodução, acesse: http://vsites.unb.br/ib/cel/microbiologia/divisao/divisao.html#fissao

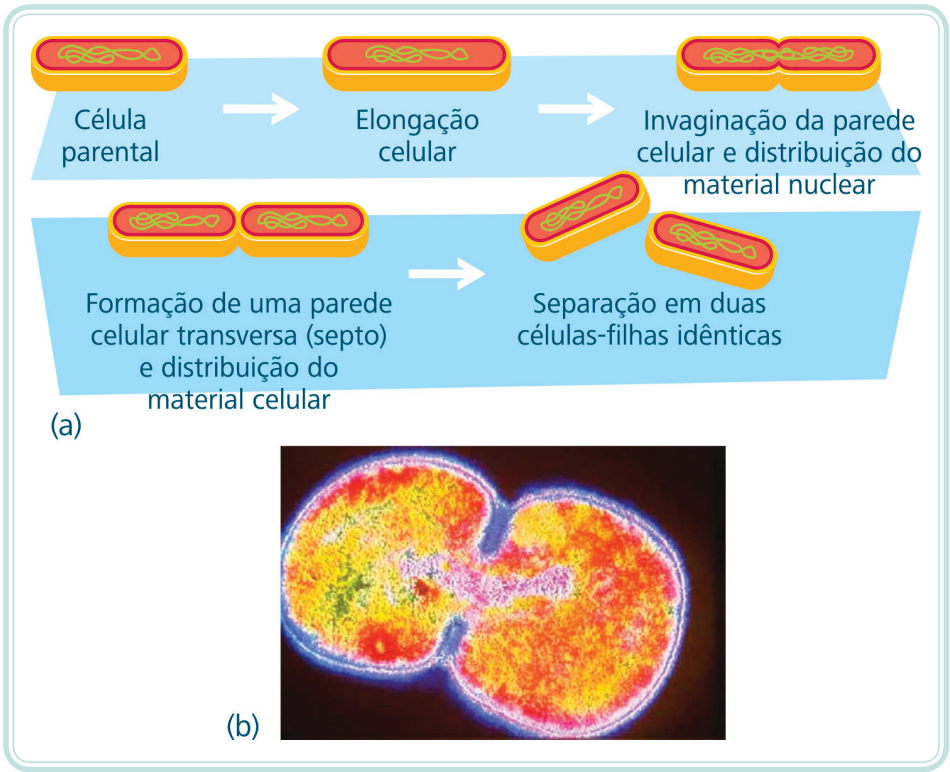


Figura 4.1: (a) Fissão binária e (b) exemplo de divisão binária em bactéria *Moraxella catarrhalis*
Fonte: (a) CTISM
(b) http://www.avelox.com/scripts/pages/en/microsites/electronmicrographs/index.php?page=3

Embora não ocorra reprodução sexuada, pode ocorrer troca de material genético entre as bactérias. Tal recombinação genética pode ocorrer por transformação, conjugação ou transdução.

a) **Transformação** – incorporação de fragmentos de DNA perdidos por outra bactéria que se rompeu. Esse mecanismo demonstra formalmente que o DNA é a base química da hereditariedade (Figura 4.2).

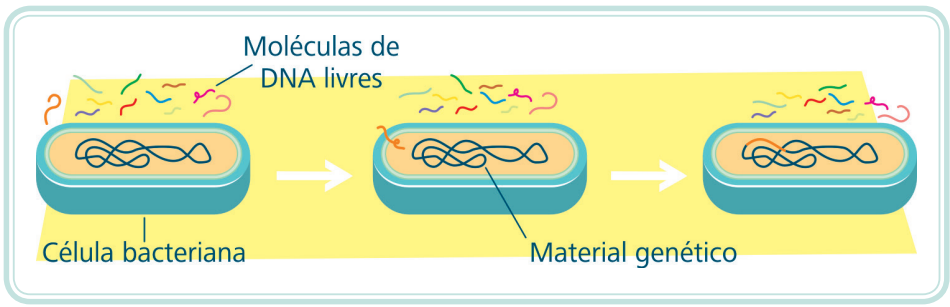


Figura 4.2: Transformação bacteriana
Fonte: CTISM

b) Conjugação – duas células bacterianas geneticamente diferentes trocam DNA através de pêlo sexual (Figura 4.3).

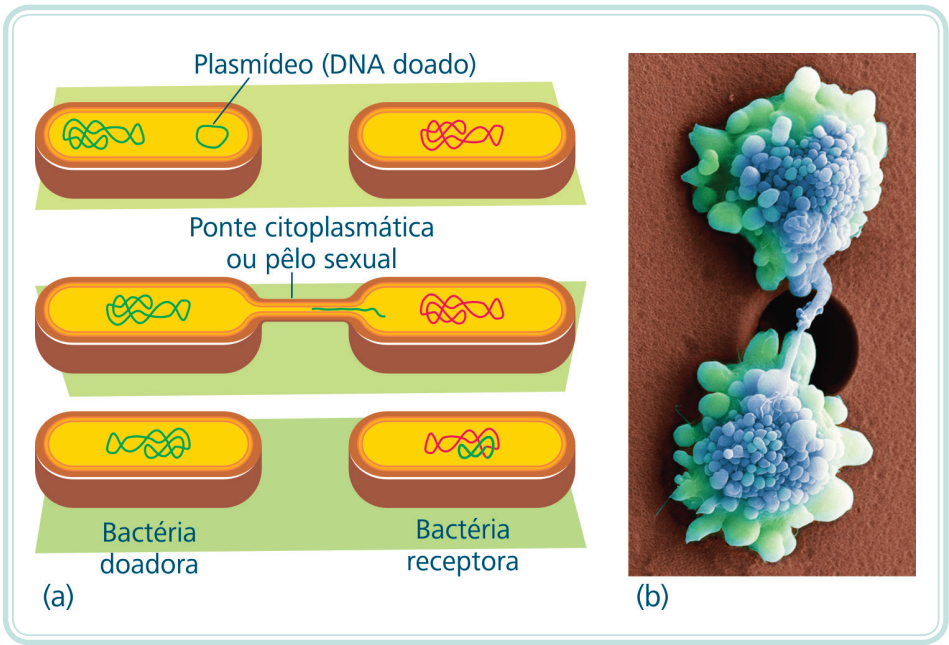


Figura 4.3: (a) Conjugação bacteriana e (b) exemplo de conjugação entre bactérias
Fonte: (a) CTISM
(b) http://www.focus.it/Salute/fotodelgiorno/Cellule_mortali_ma_immortali.aspx

c) Transdução – moléculas de DNA são transferidas de uma bactéria para outra usando os vírus como vetores (bacteriófagos). Quando o bacteriófago entra numa célula bacteriana, o DNA do vírus mistura-se com uma parte do DNA bacteriano, de modo que o vírus passa a carregar essa parte do DNA. Se o vírus infecta uma segunda bactéria, o DNA da primeira pode misturar-se com o DNA da segunda. Essa nova informação genética é então replicada a cada nova divisão (Figura 4.4).

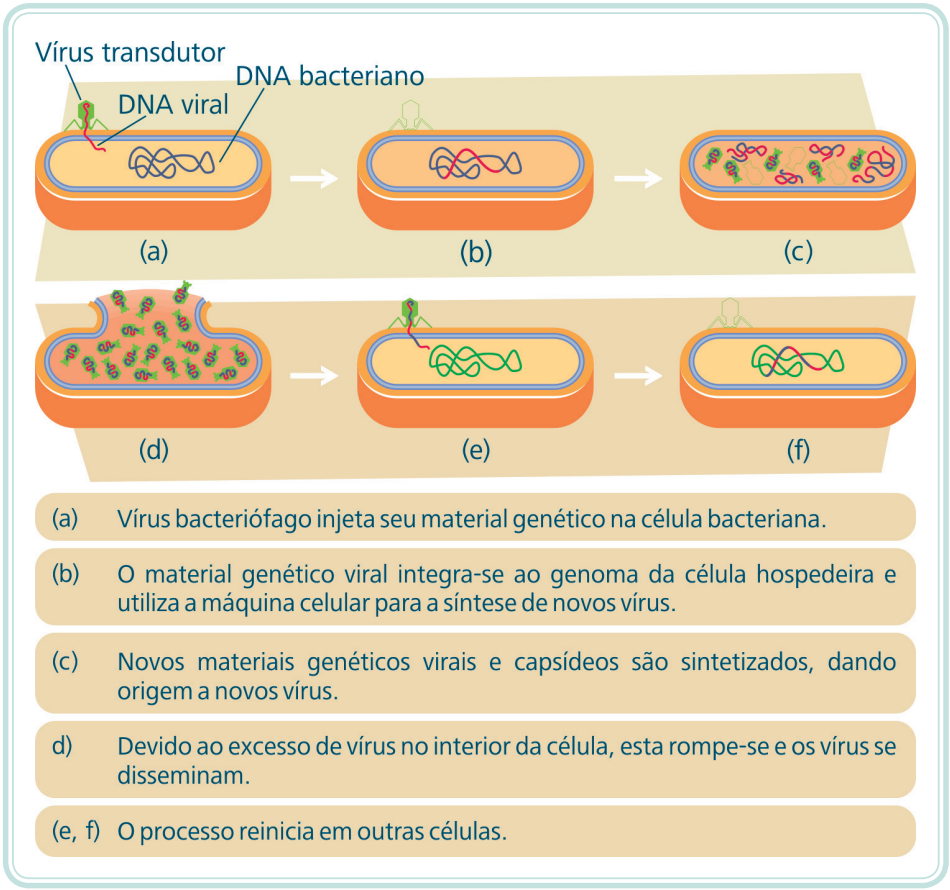


Figura 4.4: Transdução bacteriana
Fonte: CTISM

d) Tempo de geração – é o tempo necessário para que uma célula bacteriana se divida ou para que a população duplique. Esse tempo pode variar de 15 a 20 minutos ou até algumas horas. O tempo de geração depende da espécie bacteriana e das condições ambientais, ou seja, as bactérias são capazes de crescer numa ampla faixa de condições físicas, podendo utilizar alimentos muito diferentes. Contudo, seu crescimento requer condições específicas para uma dada espécie.

e) Endósporos (esporos) – formas dormentes de células bacterianas são produzidas por certas espécies de bactérias em situações de escassez de nutrientes (Figura 4.5). Os esporos representam uma fase latente (repouso) da célula: são extremamente resistentes aos agentes físicos e químicos adversos, demonstrando uma estratégia de sobrevivência. O endósporo resiste até que as condições melhorem e muitos resistem até mesmo à água fervente. A indústria de alimentos preocupa-se em tomar providências para que os endósporos não estejam presentes durante o

processo de acondicionamento dos alimentos. Todas as bactérias dos gêneros *Bacillus* e *Clostridium* produzem endósporos.

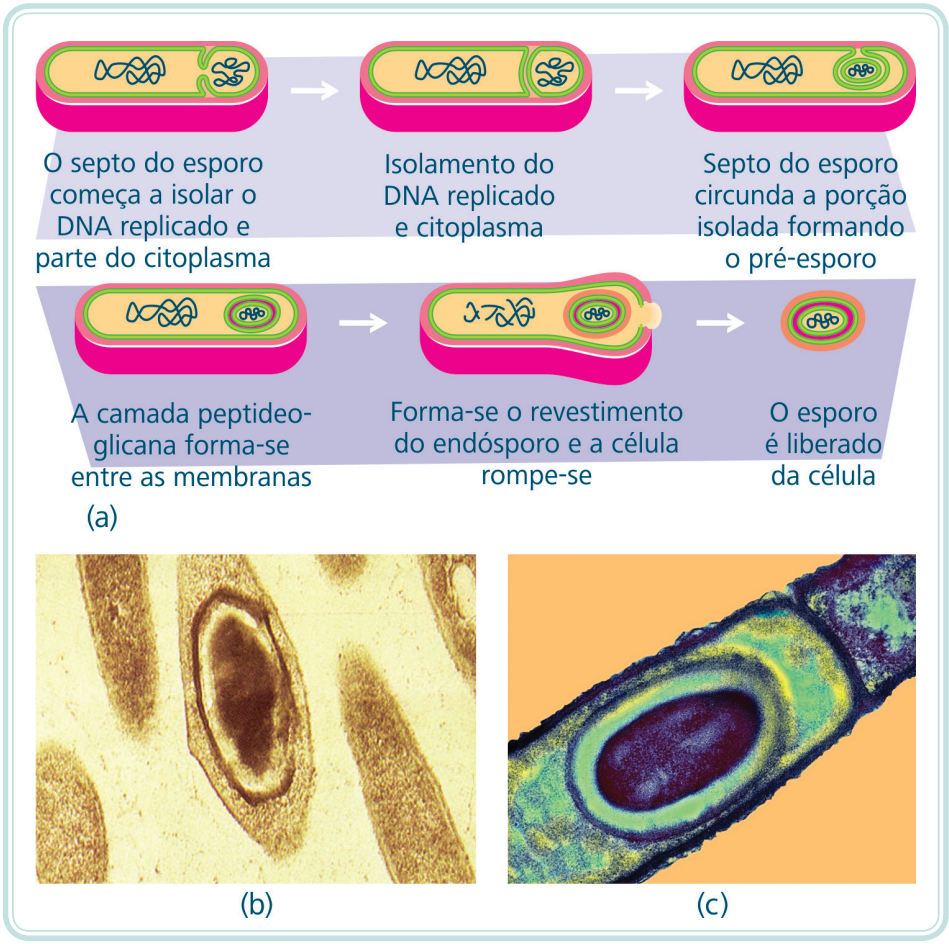


Figura 4.5: (a) Formação do endósporo; (b) e (c) exemplos de endosporos
Fonte: (a) CTISM
(b) http://www.technolog.friko.pl/neoalmanach/5.mikrobiologia/4.html
(c) http://visualsunlimited.photoshelter.com

4.3 Nutrição das bactérias

Do ponto de vista nutricional, as bactérias podem ser divididas em classes fisiológicas dependendo da forma de obtenção de fontes de energia e carbono para a realização de suas atividades vitais:

- **Fototróficos** – são organismos que utilizam a energia radiante (luz) como fonte.
  Bactérias autótrofas: fotossintetizantes e quimiossintetizantes.

- **Quimiotróficos** – são organismos incapazes de utilizar a energia radiante; dependem da oxidação de compostos químicos para a obtenção de energia. Bactérias heterótrofas: quimiossintetizantes.

4.3.1 Nutrientes

São as substâncias encontradas no ambiente, que participam do metabolismo celular (anabolismo e catabolismo), podendo ser divididos em dois grandes grupos: **macronutrientes**, que são necessários em grandes quantidades e **micronutrientes**, necessários em pequenas quantidades (Quadro 4.1).

- **Principais macronutrientes** – Carbono, Nitrogênio, Hidrogênio, Fósforo, Enxofre, Potássio, Magnésio, Cálcio, Sódio e Ferro.

- **Principais micronutrientes** – Cobalto, Zinco, Molibdênio, Cobre, Manganês e Níquel.

Quadro 4.1: Macronutrientes

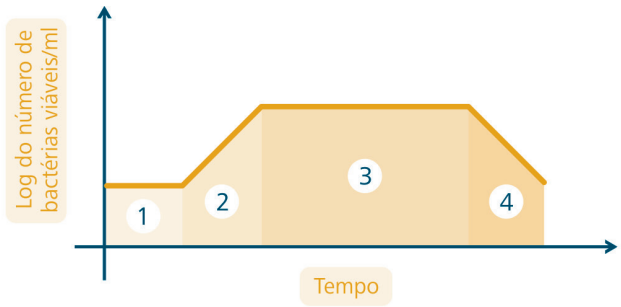
Principais elementos	→	Forma em que são encontrados
C	→	CO_2 e composto orgânico
H	→	H_2O e composto orgânico
O	→	H_2O e O_2
N	→	NH_3, NO_3 e composto orgânico
P	→	PO_4
S	→	H_2S, SO_4 e composto orgânico
K	→	K^+
Mg	→	Mg^{+2}
Ca	→	Ca^{+2}
Na	→	Na^+
Fe	→	Fe^{+3} e composto orgânico

Fonte: http://vsites.unb.br/ib/cel/microbiologia/nutricao/nutricao.html#nutricao

4.4 Crescimento das bactérias

É um somatório dos processos metabólicos progressivos, que normalmente conduz à divisão (reprodução – divisão binária ou brotamento) com produção de duas células-filhas a partir de uma bactéria. Dessa forma, o crescimento é exponencial (crescimento logarítmico). Em microbiologia, o termo crescimento refere-se a um aumento do número de células e não ao aumento das dimensões celulares.

Curva de crescimento bacteriano tem quatro fases, conforme a Figura 4.6.



(1) Fase lag ou de espera: metabolismo altíssimo, mas sem divisão celular. Sua duração depende do meio de cultura.

(2) Fase log (exponencial): rápida divisão celular, as bactérias vão crescer em progressão geométrica. É uma reta cuja inclinação depende da velocidade de divisão das bactérias.

(3) Fase estacionária: ocorre quando há carência de nutrientes. Número de mortes iguala-se ao número de células produzidas, resultando uma situação de equilíbrio na população.

(4) Fase de morte ou declínio: as bactérias passam a morrer mais rapidamente que a população de novas células.

Figura 4.6: Curva de crescimento bacteriano
Fonte: CTISM

4.4.1 Fatores limitantes do crescimento bacteriano

A oferta de nutrientes é o principal fator que limita o crescimento bacteriano. Outros fatores importantes no crescimento bacteriano são: temperatura, pH, disponibilidade de O_2 e quantidade de água.

- **Temperatura** – algumas bactérias crescem melhor em temperaturas baixas, outras em temperaturas intermediárias e outras em temperaturas altas. A temperatura ótima de crescimento é aquela em que o microrganismo cresce mais rapidamente. Em temperaturas mais favoráveis para o crescimento, o número de divisões celulares por hora, chamada de taxa de crescimento, dobra para cada aumento de temperatura de 10°C. Há três temperaturas importantes a conhecer: mínima, ótima e máxima (nessa última as enzimas são danificadas pelo calor e a célula para de crescer).

  De acordo com a temperatura de crescimento, é possível distinguir, pelo menos, três grupos fisiológicos de bactérias: as psicrófilas têm tempera-

tura ótima de crescimento entre 15 - 25ºC; as mesófilas têm temperatura ótima de crescimento entre 25 - 45ºC; e as termófilas têm temperatura ótima de crescimento entre 45 - 80ºC.

- **pH** – quanto à tolerância ao pH, as bactérias podem ser acidófilas, neutrofílicas e alcalófilas. Normalmente, o pH ótimo é bem definido para cada espécie e a maioria das bactérias não cresce em valores de pH acima ou abaixo de seu pH ótimo.

Tabela 4.1: Classificação das bactérias quanto a tolerância ao pH

Bactérias	Crescimento – faixa de pH
Acidófilas	0,1 a 5,4
Neutrófilas	5,5 a 8,5
Alcalófilas	8,5 a 11,5

Fonte: http://vsites.unb.br/ib/cel/microbiologia/nutricao/nutricao.html#nutricao

- **Oxigênio** – quanto à respiração, as bactérias podem ser: aeróbias estritas (necessitam de O_2 para crescer), anaeróbias estritas (só crescem na ausência de O_2), microaerofílicas (precisam de O_2, mas em pressão inferior à atmosférica) e anaeróbias facultativas ou aerotolerantes (crescem na presença ou ausência de O_2). Veja Figura 4.7.

no livro diz que são coisas diferentes

Aeróbicos obrigatórios = só cresce com O2
Microaeróbicos = só cresce com baixa [O2]
Anaeróbicos facultativos = cresce com (+) ou sem O2
Anaeróbicos obrigatórios = só cresce sem O2
Anaeróbicos aerotolerantes = só cresce sem O2, mas continuam com O2, ou seja ele toleram o O2.

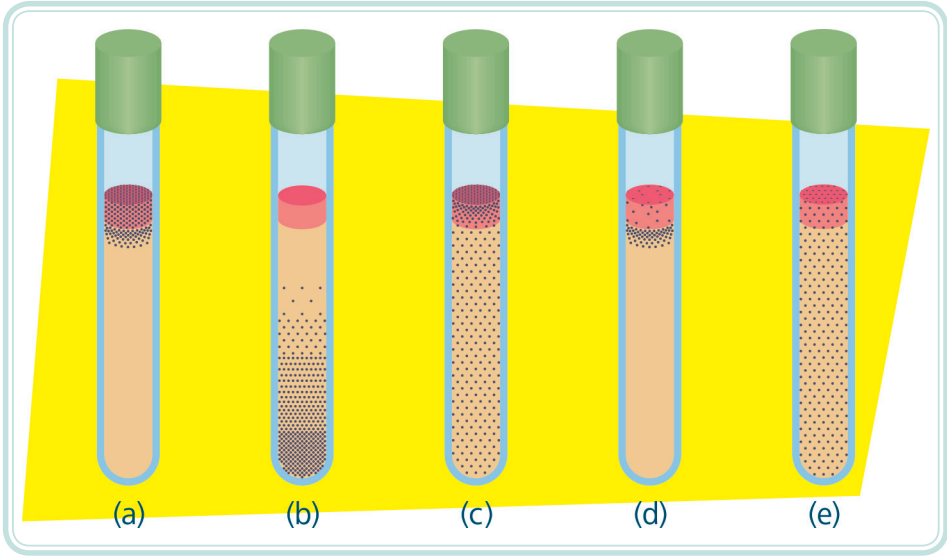


Figura 4.7: Cultura de microorganismos com diferentes necessidades de O_2: (a) aeróbios; (b) anaeróbios estritos; (c) anaeróbios facultativos; (d) microaerófilos e (e) anaeróbios aerotolerantes
Fonte: CTISM

- **Água** – essencial a qualquer microrganismo; embora a necessidade seja variada, somente endósporos bacterianos podem sobreviver sem água.

Resumo

Nessa aula, tivemos a compreensão dos tipos reprodutivos, as formas de obtenção de energia, macro e micronutrientes, as fases de crescimento e os fatores que limitam o crescimento bacteriano. Na próxima aula, iniciaremos o estudo dos fungos, em especial as leveduras.

A reprodução por cissiparidade, também conhecida como fissão binária, é um processo pelo qual um organismo se divide em duas partes iguais, formando dois novos indivíduos idênticos ao original. Nesse método, a célula ou organismo se replica, duplicando seu material genético e, em seguida, se divide ao meio, resultando em duas células ou organismos independentes. É comum em organismos unicelulares, como bactérias e protozoários.

Atividades de aprendizagem

1. Defina reprodução assexuada por cissiparidade ou fissão binária.

2. Explique, por meio de esquemas com texto explicativo, o processo de recombinação genética por transformação.

3. Descreva a reprodução em que uma bactéria transmite a outra bactéria material genético através de "pêlos sexuais". Conjugação

4. Represente esquematicamente o processo de recombinação genética por transdução. Bacteriofágo

5. O que se entende como endósporo ou esporo bacteriano?

6. Do ponto de vista nutricional, como as bactérias podem ser divididas?
   Conservar o material génetico das bacterias em condições extremas

7. Diferencie macronutrientes de micronutrientes e dê exemplos de cada um.
   ⬆ [ ] C, O, N ⬇ [ ] Zn, Mg ...

8. Comente sobre as fases de crescimento das bactérias, caracterizando cada uma delas. Lag, log, estacionária, Declínio

9. Quais os principais fatores limitantes do crescimento bacteriano?
   pH, água, T, presença ou ausência de O2 dependendo do tipo de metabolismo

10. De acordo com a temperatura e as necessidades de oxigênio, como as bactérias podem ser classificadas?

T
psicrófilas
mesófilas
Termofilas

O2
Aeróbicas obrigatórias
Microaeróbicas
Anaeróbicas obrigatórias
Anaeróbicas facultativas
Anaeróbicas aerotoleráveis

11. Dê a classificação das bactérias de acordo com o ótimo de pH.

12. Diferencie bactérias aeróbias de bactérias anaeróbias.

Aula 5 – Fungos (leveduras): morfologia e estruturas

"A persistência é o caminho do êxito".

Charles Chaplin

Objetivos

Conhecer os fungos: suas principais características.

Conhecer a importância das leveduras nos processos industriais.

Identificar as formas e os arranjos morfológicos das leveduras.

Compreender as estruturas das células das leveduras.

5.1 Apresentação

Os fungos são importantes nas indústrias químicas, farmacêuticas, de alimentos e também na agricultura.

Você já ouviu falar de leveduras, bolores, cogumelos, orelhas de pau. Todos são seres vivos que possuem características semelhantes, próprias do reino dos fungos. Nesta aula e neste caderno daremos ênfase às leveduras.

5.2 Fungos

Os fungos são organismos eucariontes, **aclorofilados**, heterotróficos e absorve componentes orgânicos como fonte de energia. São aeróbicos em sua grande maioria, mas alguns são anaeróbicos estritos e facultativos. Podem ser uni ou multicelulares e reproduzem-se sexuada ou assexuadamente. Possuem parede celular rígida que pode ser composta de celulose, glicanas, mananas ou quitina e membrana celular com esteróis presentes. Seu principal material de reserva é o glicogênio.

bolores são sinonimos de FILAMENTOSOS

Os fungos estudados em microbiologia compreendem as leveduras e os bolores. As leveduras são unicelulares, não-filamentosas, apresentam em média de

Candida albicans, Saccharomyces cerevisiae

A-Z

aclorofilados
Que não possuem clorofila. Clorofila: grupo de pigmentos fotossintéticos presente nos cloroplastos (organelas presentes nas células das plantas e algas, ricos em clorofila), responsável pela coloração verde das plantas.

ATENÇÃO: Os fungos do tipo filamentoso geralmente não se reproduzem por brotamento como as leveduras.
O brotamento é uma forma típica de reprodução assexuada encontrada em leveduras, onde uma nova célula se forma a partir da célula mãe.

1 a 5 µm de diâmetro e de 5 a 30 µm de comprimento. Elas são geralmente ovais, podendo apresentar morfologia alongada ou esférica. As leveduras não possuem flagelos, são imóveis.

Os bolores são organismos pluricelulares, que se apresentam filamentosos ao microscópio óptico a fresco com baixa ampliação. Ao exame macroscópico apresentam crescimento característico com aspecto aveludado ou cotonoso (algodão) ou como borra de café (*Aspergillus niger*).

5.3 Leveduras

São fungos da classe dos ascomicetos, os quais pertencem ao filo *Ascomycota*. Este filo caracteriza-se por possuir fungos nos quais a produção de esporos ocorre em esporângios específicos, denominados de ascos.

5.3.1 Características

São microrganismos eucariontes, unicelulares, desenvolvem-se na fermentação alcoólica. Apresentam membrana celular bem definida, pouco espessa em células jovens, e rígidas em células adultas. As leveduras não formam filamentos, são imóveis, quimio-heterotróficos e aeróbios facultativos (metabolismos oxidativo e fermentativo). Reproduzem-se assexuada e sexuadamente. Não são capazes de utilizar amido e celulose como fonte de carbono.

5.3.2 Importância

Nas indústrias, as leveduras apresentam os seguintes pontos de interesse:

- são utilizadas na produção do álcool industrial e de todas as bebidas alcoólicas destiladas ou não;
- são utilizadas na panificação;
- são prejudiciais à conservação de frutos e de sucos vegetais, pois são agentes de fermentação;
- algumas espécies são patogênicas às plantas, animais e ao homem.

5.3.3 Tamanho das células das leveduras

O tamanho das células de leveduras é variado, mas, numa cultura jovem, os tamanhos das células podem ser bem uniformes em algumas espécies ou extremamente heterogêneos em outras. Estas disparidades podem ser usadas

para fazer a diferenciação entre as espécies e algumas vezes até mesmo entre linhagens da mesma espécie. De maneira geral, as leveduras industriais variam consideravelmente no que se refere a suas dimensões.

A unidade de medida das leveduras assim como das bactérias é o µm (micrômetro), que equivale a 10^{-3} mm.

Muitas leveduras tem de 5 a 30 µm de comprimento e de 1 a 5 µm de largura.

5.3.4 Morfologia das leveduras

A célula da levedura pode apresentar várias formas, as quais podem ser o resultado da maneira de reprodução vegetativa, bem como das condições de cultivo e da idade da cultura. Veja alguns exemplos na Figura 5.1.

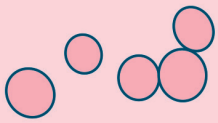
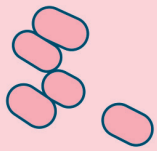
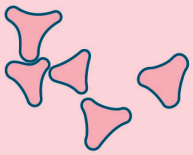
Forma		Principais Representantes
	Redondas	*Trigonopsis* *Candida* *Saccharomyces*
	Ovais	*Hansenula* *Saccharomyces* *Trigonopsis*
	Cilíndricas	*Hansenula* *Saccharomyces* *Kloëckera*
	Triangulares	*Trigonopsis*
	Apiculares	*Kloëckera*
	Ogivas	*Bretanomyces*

Figura 5.1: Forma de leveduras
Fonte: CTISM

5.4 Estruturas da célula da levedura

A maioria das investigações feitas sobre as estruturas da célula de levedura é baseada em trabalhos com *Saccharomyces cerevisiae*. As informações sobre a citologia da levedura têm sido feitas por observações diretas ao microscópio óptico, por técnica de coloração da célula para componentes específicos, por microscopia eletrônica de transmissão, bem como por microscopia de varredura. Assim, é possível verificar que as principais estruturas das leveduras são: parede celular, membrana plasmática, núcleo, mitocôndrias e vacúolos (Figura 5.2).

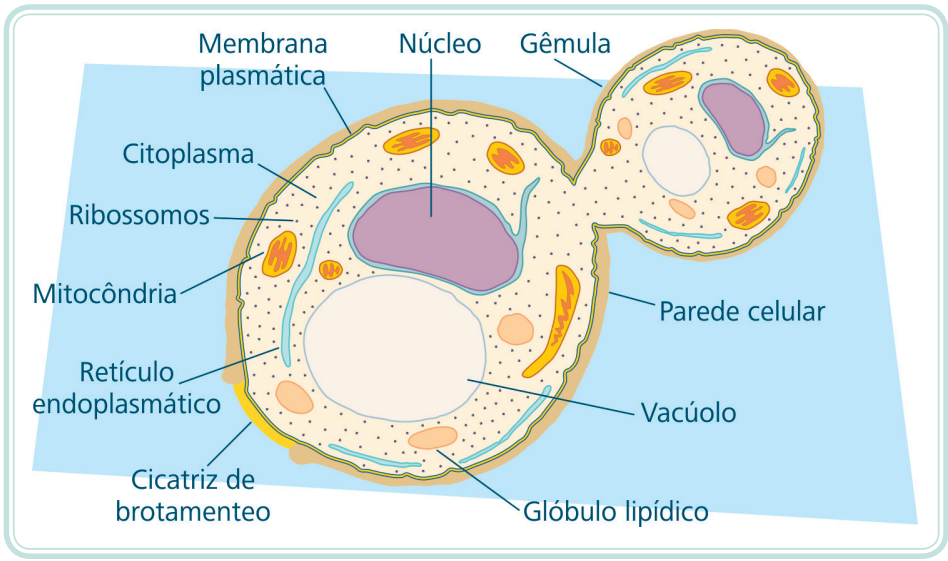


Figura 5.2: Estrutura da levedura *Sacharomyces cerivisiae*
Fonte: CTISM

5.4.1 Parede celular das leveduras

A parede celular é responsável pela forma da levedura. No caso das *Saccharomyces cerevisiae*, a parede é formada por glicano (30 a 34%) e manano (30%). Ela é fina nas células jovens e espessa nas adultas. As proteínas também estão presentes nas paredes celulares das leveduras, cerca de 6 a 8%; os lipídeos variam de 8,5 a 13,5%. A quantidade de **quitina** varia conforme a espécie, sendo que *Saccharomyces cerevisiae* apresenta entre 1 a 2% desse composto.

A-Z

quitina
Polissacarídeos encontrados na parede celular dos fungos e no exoesqueleto dos artrópodos.

5.4.2 Membrana citoplasmática

A membrana citoplasmática está localizada abaixo da parede celular e sua função é permitir a entrada seletiva de nutrientes e proteger a levedura da perda de pequenas moléculas, por vazamento do citoplasma. A composição química da membrana é composta por glicoproteínas, lipídeos e ergosterol (diferente das membranas dos mamíferos que contém colesterol).

5.4.3 Estruturas de superfície

Algumas leveduras são cobertas por um material limoso, viscoso e aderente, que é a substância capsular. A maior parte das cápsulas de leveduras é constituída de polissacarídeo.

5.4.4 Citoplasma

O citoplasma é composto pela porção fluida na qual as organelas estão localizadas. Ele contém enzimas, carboidratos de reserva (glicogênio e trealose) e grandes quantidades de ribossomos e polifosfato. De 1 a 5% do DNA das leveduras pode estar presente no citoplasma.

5.4.5 Núcleo

O núcleo das células das leveduras é facilmente observado no campo claro do microscópio óptico. Ele é bem definido, pequeno esférico ou **reniforme**, circundado por uma membrana semipermeável e com funções metabólicas e reprodutivas.

A-Z

reniforme
Que tem a forma de um rim.

5.4.6 Vacúolos

Quando as células de leveduras são vistas ao microscópio de contraste de fase, pode-se observar um ou mais vacúolos de tamanhos diferentes (0,3 a 3,0 μm de diâmetro). Eles têm aparência esférica e são mais transparentes a um feixe de luz que o citoplasma que os circunda. Ao microscópio eletrônico pode-se observar que o vacúolo é cercado por uma membrana simples e a sua constituição está relacionada ao transporte de substâncias que são armazenadas no vacúolo, tais como enzimas, aminoácidos livres e lipídeos. Os vacúolos também servem como vesículas de armazenamento para várias enzimas hidrolíticas.

5.4.7 Mitocôndrias

São organelas membranosas, no gênero *Saccharomyces*, elas estão geralmente bem próximas da periferia da célula, mas em leveduras aeróbias apresentam-se distribuídas pelo citoplasma. O número de mitocôndrias pode variar de um a vinte por célula. Essas organelas são envolvidas por membranas externas e internas; a membrana interna forma as cristas mitocondriais. Elas são importantes nos processos de conversão aeróbios de energia.

As leveduras são células eucariontes. As células eucariontes são mais complexas que as células procariontes (bactérias).

Resumo

Nessa aula estudamos as características, a importância das leveduras nos processos industriais, a morfologia (forma), o tamanho e as estruturas que compõe uma célula de levedura. Na aula seguinte, veremos a reprodução, a nutrição e o crescimento das leveduras.

Atividades de aprendizagem

1. Dê as principais características dos fungos.

2. Quais os fungos que são estudados em microbiologia?

3. Microscopicamente, quais as características típicas das leveduras?

4. Quais os principais tipos morfológicos das leveduras?

5. Qual a composição da parede celular nas leveduras?

6. Dê a composição química da membrana plasmática das leveduras.

7. Qual a composição da cápsula das leveduras?

8. Quais os carboidratos de reserva que são encontrados no citoplasma de uma célula de levedura?

9. Quais as funções do vacúolo nas leveduras?

10. Descreva as mitocôndrias presentes nas leveduras.

11. Esquematize uma célula de uma levedura com todas as suas estruturas.

Aula 6 – Fungos (leveduras): reprodução, nutrição e crescimento

"A melhor maneira de ter uma boa idéia é ter muitas idéias".

Linus Pauling

Objetivos

Compreender os tipos reprodutivos das leveduras.

Conhecer as formas de obtenção de energia das leveduras.

Entender a nutrição das leveduras.

Compreender a curva de crescimento e os fatores que limitam o crescimento das leveduras.

6.1 Apresentação

Nessa aula, estudaremos a reprodução das leveduras, sua nutrição e seu crescimento, importantes nos processos industriais.

6.2 Reprodução das leveduras

As leveduras reproduzem-se assexuadamente por **brotamento** ou **gemulação**. Nesse tipo de reprodução, na superfície da célula-mãe, forma-se uma pequena protuberância (broto) que se transforma em uma célula-filha. Cada broto que se separa pode tornar-se uma nova levedura ou pode permanecer ligada à célula-mãe, formando uma cadeia. Durante sua vida, uma célula madura produz, por gemulação, uma média de 24 células-filhas. As gemulações sucessivas são sempre formadas em locais diferentes na superfície celular, permanecendo cicatrizes das gêmulas como resultado desse processo de reprodução. Veja exemplos de brotamento na Figura 6.1.

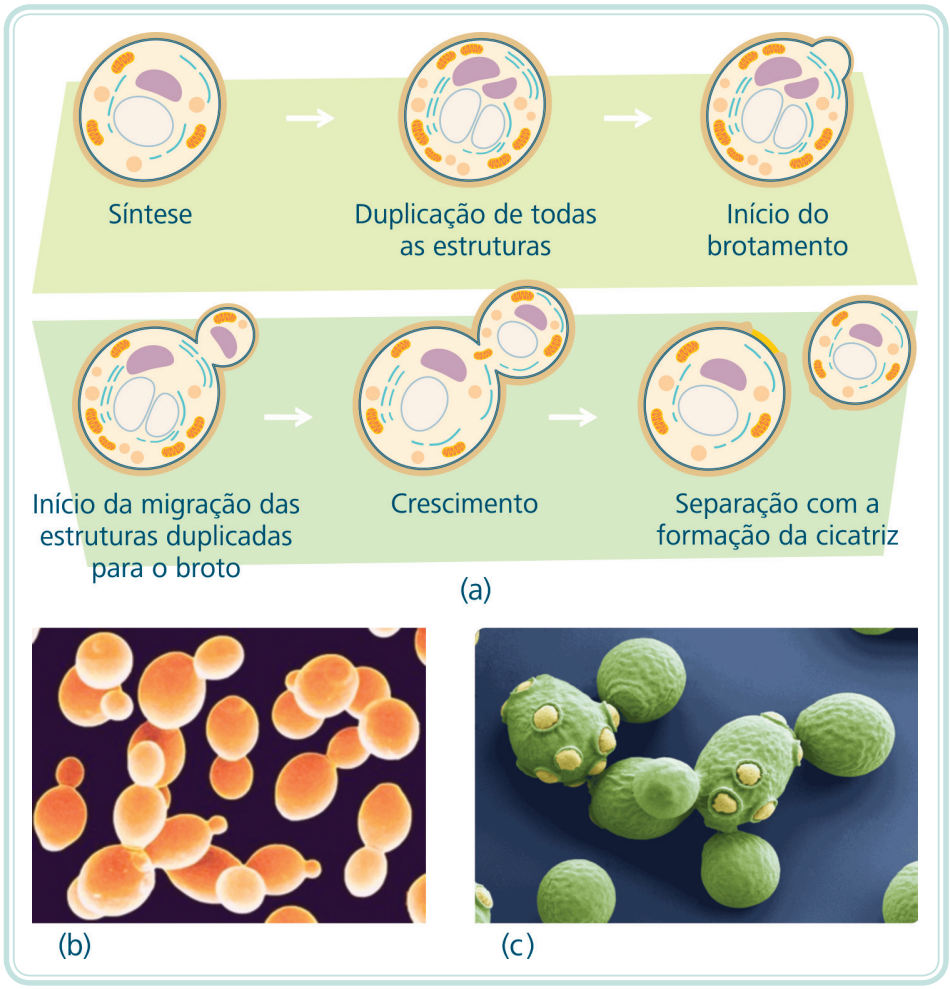


Figura 6.1: Reprodução de levedura por brotamento: (a) etapas do desenvolvimento do broto em uma levedura; (b) e (c) micrografias eletrônicas mostrando o brotamento e as cicatrizes decorrentes do mesmo

Fonte: (a) CTISM
(b) http://www.scientistlive.com/European-Food-Scientist/Ingredients/Eliminate_&lsquo%3Benemy&rsquo%3B_yeast/19429/
(c) http://www.microbiologyonline.org.uk/about-microbiology/introducing-microbes/fungi

Além da reprodução assexuada por brotamento ou gemulação, as leveduras podem reproduzir-se assexuadamente por cissiparidade ou divisão binária, forma pela qual os organismos unicelulares reproduzem-se pela simples divisão da célula (igual à reprodução que ocorre nas bactérias).

A-Z

haplóide
Células com núcleo com n cromossomos.

diplóide
Células com núcleo 2n cromossomos.

As leveduras também se reproduzem por esporos – a formação de esporos sexuados é de grande importância biológica. A esporulação constitui uma fase do ciclo sexual da levedura, isto é, a alternância da condição **haplóide** e **diplóide**. Esse ciclo permite à levedura sofrer recombinações genéticas, mutação, hibridação e seleção, processos esses que levam a mudanças evolutivas (melhoramento genético). Para que a esporulação ocorra, são necessárias condições de aerobiose, uma vez que pouco ou nenhum esporo é formado sob

condições de anaerobiose (fermentação). Já na fissão a levedura aumenta de tamanho ou se alonga, o núcleo divide-se e são formadas duas células-filhas. Durante os períodos de rápida multiplicação, as células podem dividir-se sem separar-se, formando cadeias de células.

6.3 Nutrição das leveduras

Os fungos (leveduras) são seres heterotróficos e retiram os nutrientes do meio ambiente circundante. Através da digestão enzimática externa, transformam as substâncias de maneira que possam ser absorvidas. Se o substrato for completamente oxidado, diz-se que há respiração; se o substrato for parcialmente degradado, acarretando a formação de metabólitos, diz-se que há fermentação.

A levedura como entidade independente realiza a fermentação do açúcar com o objetivo de conseguir a energia química necessária à sua sobrevivência, sendo o etanol apenas e tão somente um subproduto desse processo. Se o homem pretende beneficiar-se dessa habilidade metabólica, ele deve buscar os conhecimentos que lhe permitam propiciar às leveduras, condições ideais para que as mesmas trabalhem a seu favor, isto é, com maior eficiência na produção do etanol. A célula de levedura possui estruturas para a adequação de sua atividade metabólica; a fermentação alcoólica (glicólise anaeróbia) ocorre no citoplasma, enquanto que a oxidação total do açúcar (respiração) dá-se na mitocôndria.

De maneira geral, as leveduras necessitam de quatro elementos básicos: Carbono, Hidrogênio, Nitrogênio e Oxigênio, além de outros em menor quantidade: Fósforo, Enxofre, Ferro, Zinco, Cobre, Potássio, Magnésio e Cálcio. Alguns fungos necessitam ainda de determinados fatores de crescimento, como por exemplo, a tiamina. As leveduras, para crescer, necessitam de uma fonte de carbono e de uma fonte orgânica ou inorgânica de nitrogênio.

Necessidades nutricionais – as leveduras necessitam dos mesmos elementos químicos que as outras formas de vida.

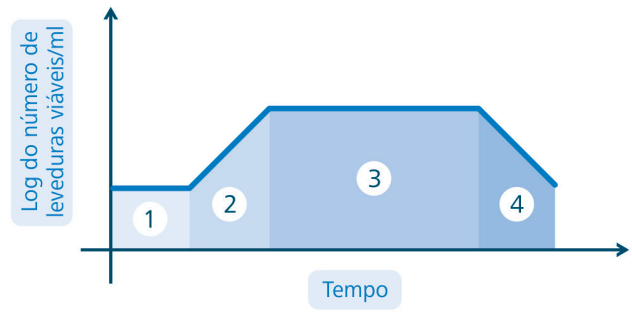
Fatores de crescimento – as leveduras necessitam de determinados fatores de crescimento tais como vitaminas.

6.4 Crescimento das leveduras

As leveduras precisam de açúcares para crescer. Através da metabolização dos açúcares, elas produzem álcool e dióxido de carbono. Por isso, as leveduras tornam-se importantes na indústria de alimentos.

O crescimento das leveduras pode ser considerado um aumento no número de células. Dessa forma, igual ao crescimento das bactérias, o crescimento é exponencial (crescimento logarítmico).

A curva de crescimento das leveduras, assim como a das bactérias, tem quatro fases, conforme a Figura 6.2.



(1) Fase lag ou de espera: metabolismo altíssimo, mas sem divisão celular. Sua duração depende do meio de cultura.

(2) Fase log (exponencial): rápida divisão celular, a leveduras vão crescer em progressão geométrica. É uma reta cuja inclinação depende da velocidade de divisão das leveduras.

(3) Fase estacionária: o número de células permanece quase constante por um período de tempo, há baixo consumo de energia e manutenção da viabilidade celular até o esgotamento dos nutrientes. É influenciada pelo esgotamento dos nutrientes do meio e o acúmulo de produtos finais tóxicos.

(4) Fase de morte ou declínio: as leveduras passam a morrer mais rapidamente que a população de novas células.

Figura 6.2: Curva de crescimento das leveduras
Fonte: CTISM

6.4.1 Fatores limitantes do crescimento das leveduras

Quase todos os fungos, quando cultivados em condições favoráveis e de abundância de alimentos de fácil assimilação, crescem rapidamente e, quando o alimento tende a diminuir, o crescimento também diminui. Outros fatores

importantes no crescimento dos fungos, em especial das leveduras, são: temperatura, pH, luz e quantidade de água.

- **Temperatura** – a temperatura tem efeito marcante nos fungos; de uma maneira geral, o ótimo para todos os fungos está entre 20°C – 30°C, embora diferentes espécies tenham outros ótimos de temperatura. Psicrófilos são organismos com ótimo de temperatura abaixo de 20°C; alguns continuam crescendo mesmo em temperaturas muito baixas (organismos marinhos e aqueles que causam deterioração em alimentos congelados). Mesófilos, inclui a maioria, tem ótimo entre 20°C e 45°C. Termófilos tem ótimo de temperatura acima de 45°C, incluem fungos de compotas, pilhas de feno em fermentação e fontes termais.

- **pH** – as leveduras crescem em variação de pH entre 2,5 e 8,5, mas, de maneira geral, o pH ótimo é neutro, sendo que as mesmas não toleram pH alcalino.

- **Oxigênio** – as leveduras são capazes de crescimento anaeróbio facultativo. Elas podem utilizar o oxigênio ou um composto orgânico como aceptor final de elétrons, isso permite que esses fungos sobrevivam a vários ambientes. Em presença de oxigênio, as leveduras respiram aerobicamente para **metabolizar** carboidratos e formar dióxido de carbono e água; na ausência de oxigênio elas fermentam os carboidratos e produzem etanol e dióxido de carbono.

- **Água** – é indispensável para o crescimento dos fungos. Pouquíssimos fungos podem desenvolver-se em pequeno grau de umidade.

Resumo

Nessa aula, tivemos a compreensão dos tipos reprodutivos, a nutrição, as fases de crescimento e os fatores que limitam o crescimento das leveduras. Na aula seguinte, iniciaremos o estudo do metabolismo e da cinética dos microrganismos.

Atividades de aprendizagem

1. Descreva a reprodução assexuada que ocorre nas leveduras.

2. Quando ocorre o processo de formação de esporos nas leveduras?

3. Descreva o processo nutricional das leveduras.

4. Quais os produtos que são formados durante a fermentação?

5. Onde ocorre o processo de fermentação alcoólica no interior das células? E o processo de respiração?

6. Compare o crescimento das leveduras com o crescimento das bactérias.

7. Comente de forma explicativa os fatores que limitam o crescimento das leveduras.

Aula 7 – Metabolismo e cinética dos microrganismos

"A primeira e melhor vitória é conquistar a si mesmo".

Platão

Objetivos

Compreender o metabolismo e a cinética dos microrganismos.

Diferenciar e entender anabolismo e catabolismo.

Conhecer tipos fermentativos.

Entender o rendimento energético na respiração e na fermentação.

Entender os cálculos do tempo de geração e a taxa de crescimento.

7.1 Apresentação

Nessa aula, estudaremos sobre o metabolismo e a cinética dos microrganismos. Como já vimos nas aulas anteriores, o crescimento dos microrganismos depende de vários fatores, tais como disposição de nutrientes e pH. Conheceremos também as principais características dos microrganismos utilizados nos processos industriais.

7.2 Metabolismo

Conjunto de todas as reações bioquímicas que ocorrem em uma célula ou organismo, indispensáveis para a manutenção da estrutura e da fisiologia. Essas reações são responsáveis pelos processos de síntese e degradação dos nutrientes na célula e constituem a base da vida, permitindo o crescimento e a reprodução das células. O metabolismo é catalisado por sistemas integrados de enzimas que mediam reações que requerem energia e é constituído pelo anabolismo e pelo catabolismo.

Metabolismo – do grego *metabole*: mudança, transformação.

São dois tipos gerais de reações:

Aquelas envolvidas na utilização de energia – **anabolismo**.

Aquelas que envolvem liberação de energia – **catabolismo**.

A-Z

O metabolismo é a manutenção das atividades vitais de uma célula; a **síntese** de compostos orgânicos, componentes estruturais e funcionais, e a degradação de compostos orgânicos para a síntese de **ATP**.

síntese
Produção.

ATP
Adenosina trifosfato.

Neste material que aborda os microrganismos, metabolismo são todas as atividades químicas realizadas pelos microrganismos.

7.2.1 Anabolismo

É o conjunto de todas as reações de síntese de compostos orgânicos estruturais (proteínas da membrana plasmática, glicoproteínas) e funcionais (enzimas, hormônios) de uma célula; é a síntese de moléculas complexas a partir de moléculas simples; há consumo de ATP, que foi liberado pelo catabolismo e que não foi usado; são reações endoenergéticas (absorve energia); exemplos disso é a fotossíntese e a quimiossíntese. Essas reações são importantes para o crescimento, a construção e o reparo de estruturas celulares.

Fotossíntese – é a sintese de carboidratos a partir de água (H_2O) e dióxido de carbono (CO_2), utilizando energia luninosa, que é absorvida pela clorofila e transformada em energia química (ATP), Figura 7.1.

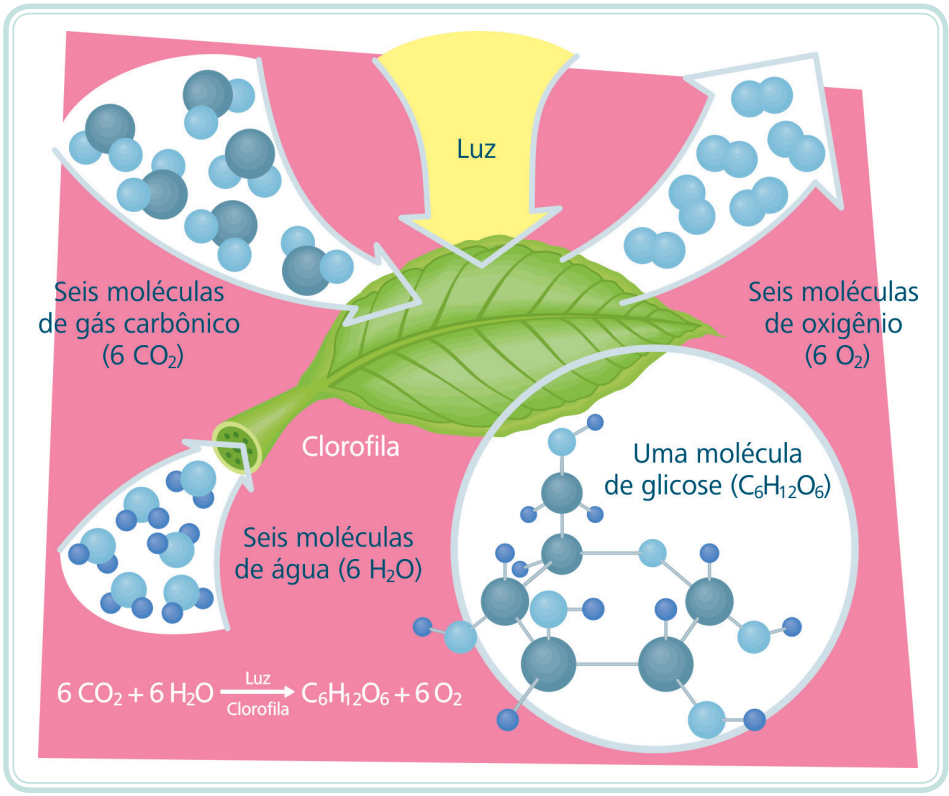


Figura 7.1: Equação da fotossíntese
Fonte: CTISM

A equação acima mostra o processo de síntese de compostos orgânicos a partir de substâncias inorgânicas (água, que é absorvido pelas raízes, e dióxido de carbono, retirado do ar atmosférico pelas folhas). A energia luminosa é transformada em energia química, com auxílio da clorofila.

Quimiossíntese – é um processo de síntese de substâncias orgânicas que utiliza o dióxido de carbono (CO_2) como fonte de carbono, mas em vez de utilizar a energia luminosa, usa a energia proveniente da oxidação de substâncias inorgânicas, como a amônia, o enxofre, os nitritos e o ferro.

7.2.2 Catabolismo

É o conjunto de todas as reações de degradação dos compostos orgânicos complexos em compostos orgânicos mais simples, com liberação de ATP. Fornece energia requerida para os processos vitais, incluindo movimento, transporte e síntese de moléculas complexas; exemplos disso são a respiração celular (aeróbica) e a fermentação.

**O tipo de microrganismo (aeróbico ou anaeróbico) determina qual via catabólica ele usa para obter energia.
Microrganismos aeróbicos dependem da respiração aeróbica.
Microrganismos anaeróbicos usam respiração anaeróbica ou fermentação para gerar energia.**

Relação do catabolismo e anabolismo COM aeróbico e anaeróbicos:

**Catabolismo (Liberação de Energia):
Aeróbicos: Usam a respiração aeróbica (com oxigênio) para quebrar moléculas e liberar energia.
Anaeróbicos: Usam a fermentação ou a respiração anaeróbica (sem oxigênio) para liberar energia.**

**Anabolismo (Consumo de Energia): Tanto microrganismos aeróbicos quanto anaeróbicos precisam de energia (ATP) para realizar processos anabólicos, como a fotossíntese ou a quimiossíntese.
A fonte dessa energia (e a forma como é produzida) é que varia de acordo com a presença ou ausência de oxigênio e o tipo de metabolismo do microrganismo.**

Respiração aeróbica – quebra de moléculas orgânicas, geralmente a glicose, em presença de O_2 com liberação de energia, dióxido de carbono e água. A energia liberada é armazenada em moléculas de ATP. É mais eficiente na obtenção de energia do que a fermentação.

A respiração aeróbica se desenvolve em três etapas:

- **Glicólise** – ocorre no hialoplasma da célula, é o conjunto de reações iniciais da degradação (quebra) da glicose. Tem início com a ativação da glicose, que recebe dois grupos fosfato, fornecidos pelo ATP, que se transforma em ADP.

- **Ciclo de Krebs** – ocorre na matriz mitocondrial. Basicamente, nesta segunda fase, opera-se a cisão (oxidação) da molécula de triose (açúcar de três carbonos) em três moléculas de dióxido de carbono, com liberação de elétrons e prótrons, que são temporariamente capturados por transportadores específicos: os NAD e os FAD.

- **Cadeia respiratória** – ocorre no interior das cristas mitocondriais, o hidrogênio liberado nas várias etapas combina-se com o oxigênio e forma água. Tal reação libera uma grande quantidade de energia, que é armazenada sob forma de moléculas de ATP.

Quadro 7.1: Rendimento energético da respiração aeróbica

Etapa	Local	Produção	Gasto
Glicólise	Hialoplasma	4 ATP	2 ATP
Ciclo de Krebs	Matriz mitocondrial	2 ATP	---
Cadeia Respiratória	Cristas mitocondriais	32 ATP	---
"LUCRO": 36 ATP Na respiração uma molécula de glicose gera 36 a 38 ATP			

Fonte: Raven, 2001

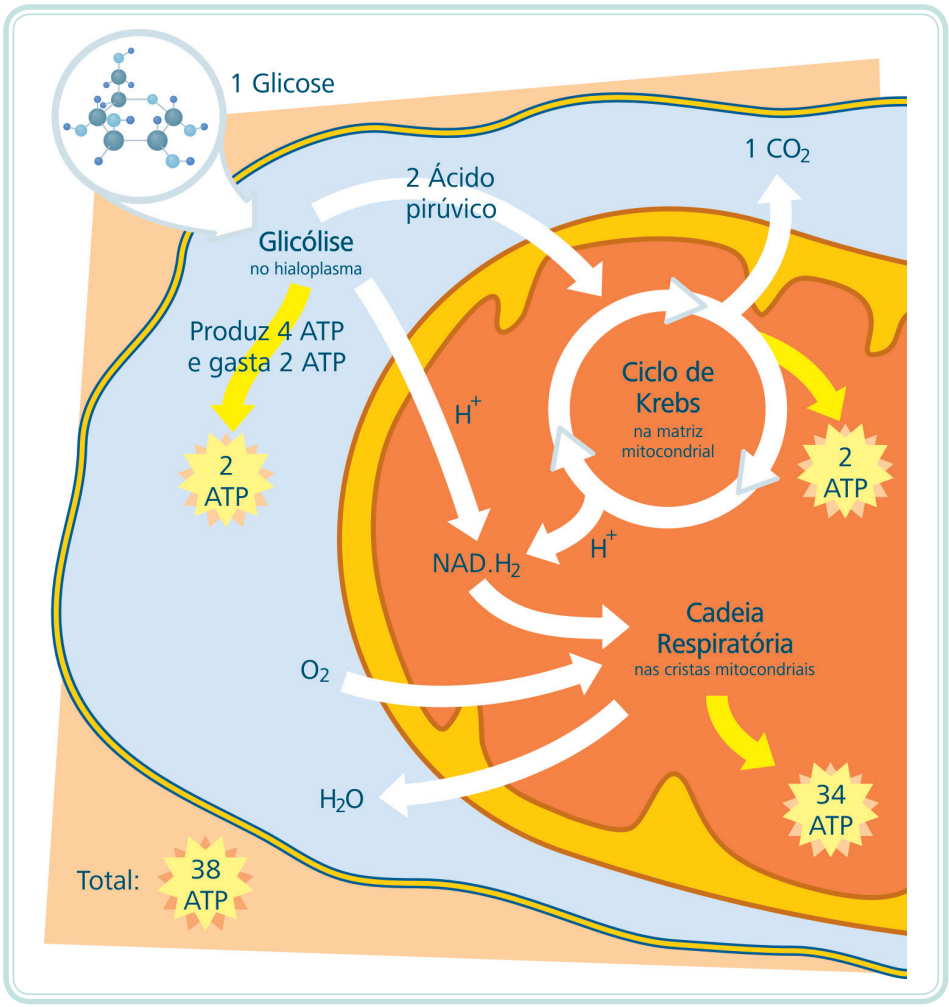


Figura 7.2: Etapas da respiração aeróbica
Fonte: CTISM

Fermentação – conjunto de reações químicas (na ausência de oxigênio) controladas por enzimas. A fermentação conduz, geralmente, à cisão parcial da molécula de glicose, resultando em disponibilidade energética inferior se comparada à respiração aeróbia. Esse processo tem grande importância econômica, sendo utilizado na fabricação de álcool combústivel, de bebidas alcoólicas, pães e outros alimentos.

Na fermentação uma molécula de glicose gera 2 ATP.

A fermentação depende do tipo de microrganismo presente. Veja alguns exemplos:

- **Fermentação alcoólica** – é produzido, como produto final, o etanol e o dióxido de carbono, produtos utilizados pelo homem na produção de álcool combustível, vinho, cerveja e outras bebidas alcoólicas, e também na produção dos pães.

- **Fermentação láctica** – é produzido, como produto final, geralmente a partir da lactose do leite. O acúmulo de ácido láctico abaixa o pH e causa a coagulação das proteínas, formando coalho, usado na fabricação de queijos e iogurtes.

- **Fermentação acética** – o produto final é o ácido acético que causa o azedar do vinho e dos sucos de frutas, transformando-os em vinagre.

A presença de leveduras contaminantes (selvagem) tem trazido sérios problemas para a fermentação, tanto na produção de vinhos como na fabricação de cerveja. Os problemas referem-se ao processo fermentativo e, principalmente à deterioração do produto final, provocando o aparecimento de sabores e aromas que descaracterizam a bebida. Na produção de álcool, a partir do melaço e/ou do caldo-de-cana, a presença de leveduras contaminantes tem sido pouco ou raramente mencionada.

Para saber mais sobre metabolismo microbiano, acesse: http://vsites.unb.br/ib/cel/microbiologia/metabolismo/metabolismo.html

Aplicações dos processos fermentativos – os processos fermentativos são utilizados industrialmente na produção de etanol, vinagres, ácidos orgânicos, bebidas alcoólicas, tais como vinho, cerveja, sidra, aguardente, e também alimentos fermentados.

7.3 Microrganismos para aplicação em processos industriais

Para que um microrganismo seja aplicado na indústria, é necessário que ele tenha as seguintes características:

- não ser patogênico;

- apresentar elevada eficiência na conversão do substrato em produto;

- não exigir condições de processo muito complexas;

- não exigir meio de cultura muito dispendioso;
- apresentar constância quanto ao comportamento fisiológico;
- permitir a rápida liberação do produto para o meio, etc.

7.4 Cinética dos processos fermentativos

A cinética do crescimento microbiano permite o conhecimento das condições favoráveis para conduzir e controlar os processos fermentativos.

São dois os objetivos da cinética do crescimento microbiano:

- medir as velocidades de transformações que ocorrem durante os processos fermentativos, como o consumo de substratos, acúmulo de produtos e de biomassas;
- estudar a influência de fatores como a temperatura, pH, água, oxigênio, etc.

O crescimento do microrganismo ocorre em diversos ambientes físicos e químicos. Os microrganismos desenvolvem suas atividades vitais em meios de elevada complexidade, transformando substâncias em outras, podendo conduzir a resultados de interesse econômico.

O processo fermentativo consiste numa complexa transformação de nutrientes de um meio de cultura, pela ação metabólica dos microrganismos presentes, em produtos e mais células microbianas (Figura 7.3).

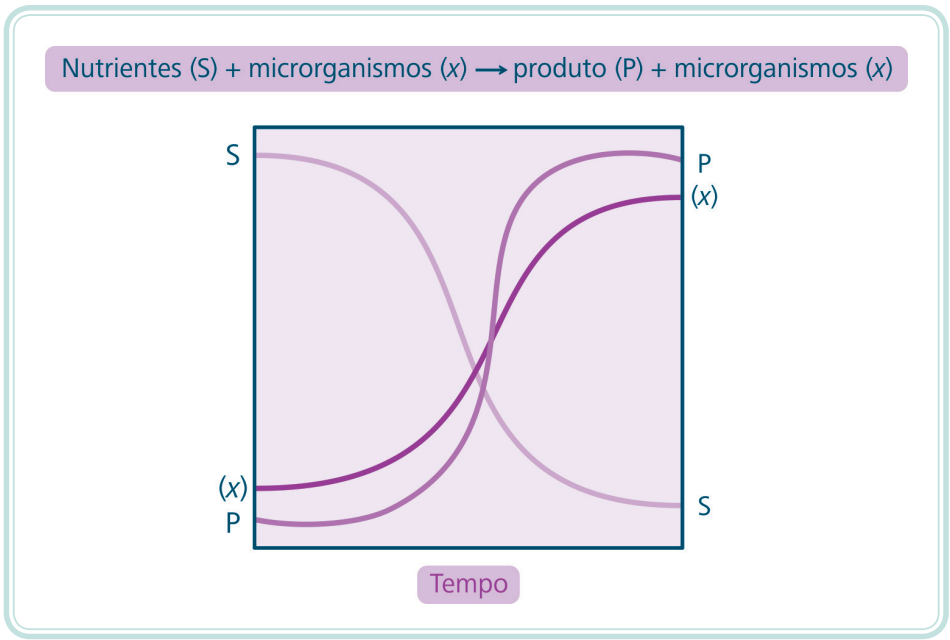


Figura: 7.3: Representação gráfica de um processo fermentativo qualquer
Fonte: CTISM

O crescimento dos microrganismos ocorre somente quando certas condições físicas e químicas são satisfeitas, tais como: pH, temperatura e nutrientes, e pode ser definido como um aumento ordenado dos seus constituintes químicos, caracterizado por um aumento no número de células e/ou acréscimo da massa celular.

Como já vimos nas aulas anteriores, o crescimento microbiano tem quatro fases (fase lag ou de espera, fase log – exponencial, fase estacionária e fase de morte ou de declínio).

Um modelo de crescimento microbiano pode apresentar os mais variados graus de complexidade, dependendo da situação física e da cinética pretendida.

Relembrando que, quando falamos em crescimento microbiano, nos referimos ao **número** e não ao **tamanho** das células.

7.4.1 Crescimento microbiano – tempo de geração

Durante a fase exponencial, cada microrganismo divide-se em intervalos constantes. Assim, a população duplicará num intervalo específico de tempo chamado **tempo de geração (g)**, é o tempo necessário para uma população

microbiana duplicar em massa ou em número. Varia conforme o tipo de microrganismo, a idade, a espécie, as condições do meio, dentre outros fatores.

7.4.2 Expressões matemáticas para a determinação dos parâmetros de crescimento microbiano

7.4.2.1 Cálculo do tempo de geração (g)

Se um tubo de cultura for inoculado com uma célula que se divide com um tempo de geração de 20 minutos, a população será de 2 células ao fim de 20 minutos, 4 células ao fim de 40 minutos, etc. Como a população duplica em cada geração, o aumento populacional é dado por 2^n, onde n é o **número de gerações**.

O tempo de geração pode ser calculado quando uma cultura encontra-se em fase exponencial. Tratando-se de **bactérias** e **leveduras** que se multiplicam por **divisão binária**, temos:

$$N_t = N_0 . 2^n$$

Onde:

N_t = número de microrganismos ao final no tempo t;

N_0 = número inicial de células;

n = número de gerações no tempo t.

Tabela 7.1: Crescimento microbiano exponencial

Tempo (minuto)	Nº de divisões	2^n	População ($N_0 \times 2^n$)	log N_t
0	0	$2^0 = 1$	1	0.000
20	1	$2^1 = 2$	2	0.301
40	2	$2^2 = 4$	4	0.602

Logritimizando a expressão $N = N_0 . 2^n$ temos que:

$$\log N_t = \log N_0 + n . \log 2$$

Resolvendo para n temos que:

$$n = (\log N_t - \log N_0) / \log 2$$

Como log2 = 0.301 então temos:

$$n = (\log N_t - \log N_0) / 0.301$$

A partir dessa equação, é possível calcular o número de gerações (n) que ocorreram em uma cultura se o número inicial de células for conhecido.

Exemplo
Calcular o número de geração de uma cultura cuja população celular passa de 10^3 para 10^8 após 5 horas de cultivo.

$n = (\log N_t - \log N_0) / 0{,}301$

$n = (8 - 3) / 0{,}301$, então $n = 16{,}6$ gerações

O número de gerações é 16,6 gerações

$$n = t/g$$

O número de gerações n pode também ser dado por:

Onde:

t = tempo de cultura ou tempo de crescimento;

g = tempo de geração;

n = número de gerações no tempo t.

$$g = t/n$$

Tendo o valor de (n) pode-se calcular o **tempo de geração (g)**:

Exemplo
Calcular o tempo de geração de uma cultura cuja população celular passa de 10^3 para 10^8 após 5 horas de cultivo.

$n = (\log N_t - \log N_0) / 0{,}301$

$n = (8 - 3) / 0{,}301$, então $n = 16{,}6$ gerações

$g = t/n$

$g = 5/16{,}6$, então $g = 0{,}3$ horas

O tempo para duplicar a população celular foi de 0,3 horas

O **tempo de geração** é variável para os diferentes microrganismos e depende dos fatores genéticos, nutricionais e ambientais.

A **taxa de crescimento** num sistema fechado pode ser expressa por meio de uma constante média da taxa de crescimento (k), ou seja, o número de gerações por unidade de tempo é muitas vezes expresso em gerações por hora.

Para saber mais sobre crescimento, acesse: http://vsites.unb.br/ib/cel/microbiologia/crescimento/crescimento.html

$k = 1/g$ ou $g = 1/k$

$k = (\log N_t - \log N_0)/0{,}301.t$ ou $g = 0{,}301.t/ (\log N_t - \log N_0)$

t = tempo

Exemplo

Uma população bacteriana aumenta de 10^3 células para 10^9 células em 10 horas. Calcule a taxa de crescimento e o tempo de geração.

$k = (\log N_t - \log N_0)/0{,}301.t$

$k = (9 - 3)/0{,}301 \,.\, 10$

$k = 2$ gerações/hora

$g = 1/k$

$g = 1/2$

$g = 0{,}5$ horas

7.5 Métodos para quantificação do crescimento

Para saber mais sobre quantificação do crescimento, acesse: http://vsites.unb.br/ib/cel/microbiologia/crescimento/crescimento.html#medidas

Existem diferentes processos para medir o crescimento microbiano, determinar a taxa de crescimento e o tempo de geração. A massa microbiana e o número de células podem ser seguidos porque o crescimento conduz a um aumento de ambos. Os principais métodos são:

a) Quantificação direta:

- Contagem em placas;
- Filtração;
- Contagem direta ao microscópio.

b) Quantificação indireta:

- **Turbidimetria**;
- Atividade metabólica.

Turbidimetria
Refere-se aos métodos de análise de soluções coloidais ou de suspensões, baseado na medição da absorção de luz.

Resumo

Nessa aula foi possível compreender os processos metabólicos que ocorrem nos microrganismos, conhecer os tipos de fermentações e o rendimento energético nesses processos. Também vimos um pouco sobre cinética das fermentações, tempo de geração e taxa de crescimento.

Atividades de aprendizagem

1. O que é metabolismo?
2. Diferencie anabolismo de catabolismo.
3. O que são reações endoenergéticas?
4. Qual o rendimento energético na respiração celular e na fermentação?
5. Diferencie fermentação alcoólica, láctica e acética.

6. Quais os objetivos da cinética do crescimento microbiano?

7. Calcule o número de geração de uma cultura cuja população celular passa de 10^2 para 10^{10} após 4 horas de cultivo.

8. Calcule o tempo de geração de uma cultura cuja população celular passa de 10^5 para 10^{15} após 5 horas de cultivo.

9. Uma população bacteriana aumenta de 10^2 células para 10^{12} células em 10 horas. Calcule a taxa de crescimento e o tempo de geração.

Aula 8 – Provas bioquímicas e cultura de microrganismos

"Na natureza nada se perde, nada se cria, tudo se transforma".

Antoine Lavoisier

Objetivos

Conhecer princípios e procedimentos de diversas provas (testes) bioquímicas usadas na identificação de microrganismos.

Conhecer a técnica de enumeração e detecção de microrganismos – Método do Número mais Provável (NMP).

8.1 Apresentação

Nesta aula, estudaremos a investigação das atividades metabólicas dos microrganismos "*in vitro*", chamada de provas (testes) bioquímicas, que auxiliam na identificação de grupos ou espécies de bactérias ou leveduras através da verificação das transformações químicas, que ocorrem num determinado substrato, pela ação das enzimas. Como muitas vezes um determinado microrganismo possui um sistema enzimático específico, promovendo transformação bioquímica específica, as provas bioquímicas podem ser utilizadas na prática para a sua caracterização. Também serão estudadas algumas técnicas de enumeração e detecção dos microrganismos.

8.2 Provas bioquímicas

8.2.1 Prova de catalase

A catalase é uma enzima que decompõe o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em água e oxigênio. É produzida por muitos microrganismos, e usualmente empregada para diferenciar *Staphylococcus*, catalase positivos, de *Streptococcus*, catalase negativos.

Observação

A prova é considerada positiva quando há borbulhamento ou efervescência devido à liberação do oxigênio.

A-Z

citocromos
É uma pequena proteína heme.

8.2.2 Prova da citocromo-oxidase

Sistema enzimático relacionado com os **citocromos** da cadeia respiratória de alguns microrganismos. A prova é considerada positiva quando, na mistura do reagente com a massa bacteriana, desenvolve-se a cor púrpura em até 1 minuto. Na reação negativa, não há desenvolvimento de cor púrpura.

8.2.3 Utilização de fontes de carbono

a) **Provas fermentativas** (glicose, lactose, sacarose, manose, xilose, sorbitol, etc.).
Um determinado carboidrato pode ser fermentado e originar diferentes produtos finais, o que depende do microrganismo envolvido. Isso pode gerar gás, que pode ser detectado pela presença de bolhas no tubo de *Durham*, e ácidos orgânicos, que podem ser detectados pela mudança de cor do indicador.

Mesmo com uma reação negativa, o microrganismo pode ter utilizado outros nutrientes do meio de cultura do teste, como a peptona. As leituras devem ser feitas em, no máximo, 24h, uma vez que uma incubação prolongada pode mascarar a produção de ácido, pois ocorre produção de substâncias alcalinas resultantes da ação enzimática sobre outros substratos.

b) **Hidrólise do amido**
As moléculas de amido são constituídas por amilose e amilopectina as quais são rapidamente hidrolisadas por algumas bactérias, que usam as suas α-amilases, originando dextrinas, glicose e maltose. Utiliza-se uma solução de iodo para indicar a presença de amido. Quando o iodo entra em contato com o amido, forma um complexo azul acastanhado. O amido hidrolisado não produz alteração de cor. Se aparecer uma zona clara após a adição de iodo a um meio que contenha amido e crescimento bacteriano, é porque a α-amilase foi produzida pela bactéria. Se não ocorrer uma zona clara, o amido não foi hidrolisado.

8.2.4 Provas IMViC (*Indole, Methyl-red, Voges-proskauer, Citrate*)

Estas provas permite diferenciar os principais grupos de *Enterobacteriaceae*, pois são baseadas nas propriedades bioquímicas e nas reações enzimáticas na presença de substratos específicos.

Outros testes tbm usados:
Ágar Citrato de Simmons (CITRATO) ✅
Ágar Sulfeto de Hidrogênio ✅ (tiossulfato redutase)
Ágar Indol ✅ (triptofanase)
Caldo Ureia de Stuart (UREIA); ✅
Caldo Vermelho de Metila (VM) ✅
Ágar Fenilalanina (FA);
Ágar MacConkey. - lactose
Ágar Motilidade (SIM);
Ágar Tríplice-Ferro (TAF);

a) Prova do Indol

A Escherichia coli fica PINK
Khebisiella pneumoniaie incolor

O indol é produzido a partir do triptofano existente no meio de cultura sob a ação da triptofanase, há também a produção de ácido pirúvico e amônia. O indol pode ser detectado pela formação de um anel rosa, "*pink*", na parte superior do tubo, após a adição de p-dimetilaminobenzaldeído (reativo de *Erlich*).

b) Prova do Vermelho de Metila (VM)

A Escherichia coli fica vermelha
A Enterobacter aerogenes fica amarela

Esta prova avalia a capacidade do microrganismo de oxidar a glicose com produção e estabilização de altas concentrações de produtos finais ácidos. Serve para diferenciar organismos entéricos, em particular, *Escherichia coli* de *Escherichia aerogenes*. Embora todas as enterobactérias fermentem glicose, alguns microrganismos, durante a fase final de incubação, convertem esses ácidos em produtos não ácidos como o etanol, o que resulta num pH mais elevado (pH 6). O indicador de pH é o vermelho de metila que, em pH abaixo de 4,4 é vermelho e acima de 6 é amarelo.

c) Prova de *Voges-Proskauer* (VP)

Há bactérias que utilizam a fermentação butilenoglicólica. Elas fermentam a glicose, produzindo acetil-metil-carbinol (acetoína), butilenoglicol e pequenas quantidades de ácidos. Quando KOH (4 gotas do Barrit II) é adicionado e na presença de O_2 atmosférico, a acetoína é oxidada a diacetil. A adição de alfa-naftol (10 gotas do Barrit I), nessa reação, catalisa a produção de um anel vermelho tijolo, após 10-15 minutos. Adicionar primeiro o Barrit I, depois o Barrit II e agitar o tubo para expor ao oxigênio.

O teste de Voges-Proskauer (VP) é utilizado para identificar e diferenciar certos tipos de bactérias , especialmente aquelas que produzem acetoino e 2,3-butanodiol a partir da glicose. Mais especificamente, o teste ajuda a distinguir entre bactérias do grupo Enterobacteriaceae, por exemplo, entre aquelas que produzem ácido acético (não VP positivo) e aquelas que produzem acetoino (VP positivo).
Bactérias que dão resultado positivo no teste VP geralmente são capazes de fermentar glicose e produzir acetoino, como algumas espécies de Enterobacter, Serratia e Klebsiella. Por outro lado, bactérias que não produzem acetoino terão resultado negativo no teste.

d) Citrato

\+ fica AZUL pelo aumento do pH e se for continuar neutro fica verde

Este teste determina se a bactéria é capaz de utilizar o citrato de sódio como única fonte de carbono para o seu metabolismo e crescimento. Deve ser utilizado o meio Citrato de *Simmons*, composto por citrato de sódio, fosfato de amônia e por azul de bromotimol. Com a facilidade do transporte de citrato pela citrato-permease, ela é utilizada pela citrase com produção de hidróxido de amônia, o que eleva o pH fazendo com que a reação torne-se azul. Nesse teste, utilizam-se tubos com meio inclinado para ter mais acesso ao oxigênio, necessário para a utilização do citrato. O CO_2 produzido reage com o sódio do citrato formando carbonatos de reação alcalina.

Agar Citrato de Simmons (CITRATO): meio utilizado para identificação de bactérias que utilizam o citrato com única fonte de carbono. O meio tem a coloração inicial verde, se a bactéria metabolizar o citrato presente no meio, ele ficará azul devido ao indicador azul de bromotimol. A mudança de cor ocorre pela alcalinização do meio (Figura 15).

8.2.5 Utilização de fontes de proteínas, aminoácidos e enzimas

a) Prova do sulfureto de hidrogênio (H_2S)

Algumas bactérias são capazes de degradar compostos que contêm enxofre (como o tiossulfato de sódio e a cisteína das peptonas), através da tiossulfato redutase, produzindo H_2S que é incolor. Este reage com o ferro (indicador) e forma um precipitado preto (sulfeto ferroso). Para que esta reação ocorra, é necessário que o meio esteja ácido.

b) Hidrólise da gelatina

O objetivo desta prova é determinar a capacidade do microrganismo de excretar uma enzima hidrolítica extracelular, chamada gelatinase, capaz de degradar a gelatina. A gelatina é uma proteína produzida pela hidrólise do colágeno. Abaixo dos 25°C mantém as suas propriedades de gel e é sólida, enquanto acima dos 25°C é líquida. Determinados microrganismos têm capacidade de produzir a gelatinase, que atua hidrolisando a gelatina em aminoácidos. Se a degradação ocorre, não se conseguem restaurar as características de gel da gelatina, mesmo a baixas temperaturas (fica líquido). A hidrólise da gelatina é uma característica importante na diferenciação dos microrganismos e pode também ser usada para determinar a sua patogenicidade.

8.3 Prova da motilidade

A prova da motilidade indica, indiretamente, a produção de flagelos. Não é uma prova bioquímica, e sim **fisiológica**, mas auxilia na identificação de bactérias. A prova é efetuada inoculando-se, em linha reta, através da técnica da puntura (com agulha), 2/3 de um meio semissólido. A prova indica motilidade quando os microrganismos crescem deslocando-se da linha de inoculação, turvando o meio. A prova é negativa quando os microrganismos ficam restritos ao local da inoculação sem, contudo, turvar o meio.

Observação

O objetivo da prova de motilidade é determinar se um microrganismo é móvel ou imóvel, ou seja, se tem ou não flagelo.

8.4 Meios de cultivo

Os **meios de cultivo**, também chamados **meios de cultura**, consistem em material nutritivo, preparado em laboratório, que se destina ao cultivo artificial de microrganismos. Os meios de cultivo devem conter as substâncias exigidas pelas bactérias para o seu crescimento e multiplicação. Para que possam fazer a síntese de sua própria matéria nutritiva, devem dispor de fontes de carbono (proteínas e açúcares), fontes de nitrogênio (peptonas) e fontes de energia. São também necessários alguns sais inorgânicos, vitaminas e outras substâncias que favorecem o crescimento. Além de nutrientes, é igualmente necessário que as condições de oxigênio (presença ou ausência), pH e pressão osmótica sejam adequadas ao cultivo do microrganismo.

8.4.1 Classificação dos meios de cultivo

a) Quanto ao estado físico

- **Meios líquidos** – são aqueles em que os nutrientes estão dissolvidos em uma solução aquosa. O crescimento bacteriano, nesse meio, muda seu aspecto, ou seja, o meio sofre uma turvação.

- **Meios semissólidos** – são aqueles que possuem, na sua composição, além dos nutrientes, uma pequena porcentagem de ágar, polissacarídeo proveniente de algas marinhas. São geralmente utilizados em tubos e, a partir desse tipo de cultura, é possível observar a motilidade bacteriana.

- **Meios sólidos** – são aqueles que possuem uma porcentagem maior de ágar (2%), além dos nutrientes. Podem ser dispostos em tubos ou em Placas de *Petri*, dependendo da finalidade. Através do meio sólido em placas de *Petri*, é possível, utilizando-se a técnica do esgotamento, conseguir o isolamento de colônias bacterianas. É o meio ideal para que seja feito o estudo da morfologia colonial. Já a cultura em ágar inclinado, fornece somente o crescimento bacteriano com a obtenção de uma biomassa de microrganismos.

b) Quanto à função

- **Meios simples** – possuem os componentes essenciais para o crescimento de microrganismos pouco exigentes. Ex.: caldo simples.

- **Meios complexos** – são adicionadas ao meio simples substâncias enriquecedoras como sangue, soro, ovo, extrato de leveduras, etc. Ex.: Ágar sangue.

O ágar SS contém sais biliares, verde brilhante e citrato sódico, que inibem o crescimento de bactérias Gram-positivas e outras Enterobacteriaceae não patogênicas, facilitando o isolamento de Salmonella e Shigella.

- **Meios seletivos** – são aqueles que favorecem o desenvolvimento de determinados microrganismos em detrimento de outros, geralmente pela adição de substâncias inibidoras. Ex.: Ágar *Salmonella-Shigella*.

- **Meios diferenciais** – permite o desenvolvimento de grupos de microrganismos com características relativamente definidas, o que permite diferenciar um grupo ou uma espécie de microrganismo. Ex.: Ágar *MacConkey*.

Observação
Os meios de cultivo são preparados e armazenados seguindo um rigoroso controle de qualidade, pois devem ser mantidas todas as suas propriedades nutricionais e garantida a esterilidade até o momento de sua utilização.

8.5 Técnicas de semeadura

A escolha da técnica para o cultivo de microrganismos em condições laboratoriais varia de acordo com o tipo de meio de cultura e a finalidade do cultivo, porém algumas regras devem ser seguidas nas inoculações:

a) A agulha e alça bacteriológica devem ser esterilizadas por flambagem antes e após qualquer cultivo. Deve-se tomar cuidado para esfriá-las antes da coleta.

b) Os recipientes devem sempre ser abertos próximos à chama do bico de *Bunsen*.

c) Deve-se evitar ao máximo que as tampas dos tubos e placas fiquem abertos sob a bancada durante o cultivo.

Observação
Nunca se deve colocar o tampão do tubo sobre a bancada.

As alças e agulhas bacteriológicas são feitas de fio de **platina** ou **níquel-cromo**.

8.5.1 Semeadura da amostra em superfície

a) Técnica I – Meio líquido

- Primeiro, mergulha-se a alça de platina esterilizada na cultura bacteriana. Em seguida, a alça carregada de bactérias deve ser mergulhada no tubo com o meio de cultivo e agita-se a alça (Figura 8.1).

- O objetivo dessa técnica é observar a respiração das bactérias.

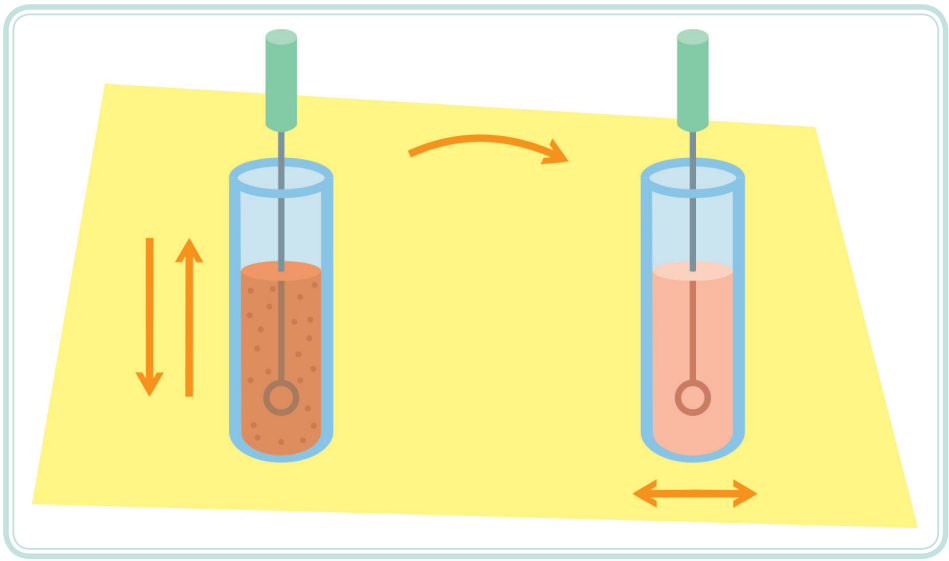


Figura 8.1: Esquema da técnica de semeadura em meio líquido
Fonte: CTISM

b) Técnica II – Meio semissólido

- Primeiro, mergulha-se a agulha de níquel-cromo esterilizada na cultura bacteriana. Em seguida, é feita uma "injeção" com a agulha carregada de bactérias no meio de cultivo semissólido (Figura 8.2).

- O objetivo dessa técnica é observar a motilidade das bactérias.

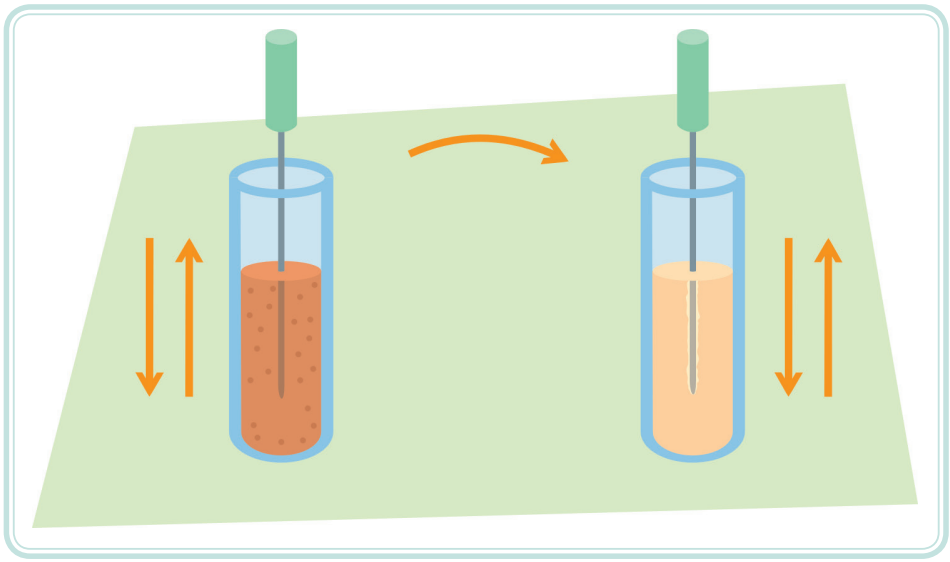


Figura 8.2: Esquema da técnica de semeadura em meio semissólido
Fonte: CTISM

c) Técnica III – Meio sólido (ágar inclinado)

- Primeiro, mergulha-se a alça de platina esterilizada na cultura bacteriana; depois, encosta-se levemente a alça no tubo com o meio de cultura na parte mais baixa do plano inclinado e eleva-se, fazendo estrias na superfície do ágar (Figura 8.3).

- O objetivo dessa técnica é obter uma concentração de massa bacteriana.

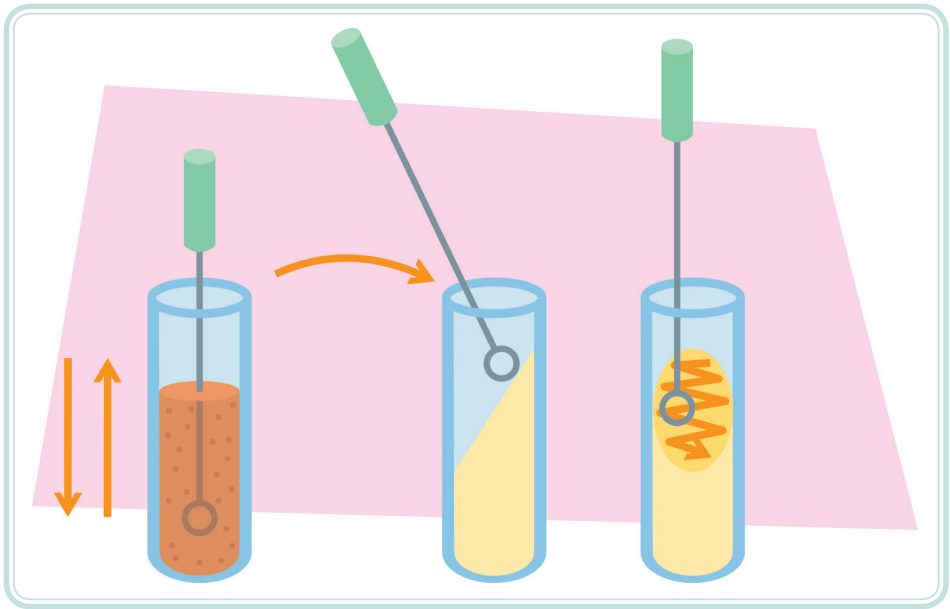


Figura 8.3: Esquema da técnica de semeadura em meio sólido (ágar inclinado)
Fonte: CTISM

d) Técnica IV – Meio sólido (placa de *Petri* – técnica do esgotamento)

- Divide-se a placa de *Petri* em três partes, fazendo linhas com a caneta retroprogetor na parte de baixo da placa.
- Mergulha-se a alça de platina esterilizada na cultura bacteriana.
- Devem ser feitas estrias em cada divisão, respeitando as linhas e utilizando da melhor forma possível toda a superfície da placa (Figura 8.4).
- O objetivo dessa técnica é obter (isolar) culturas puras de amostras que contenham microbiota mista, sendo igualmente útil para o estudo da morfologia colonial.

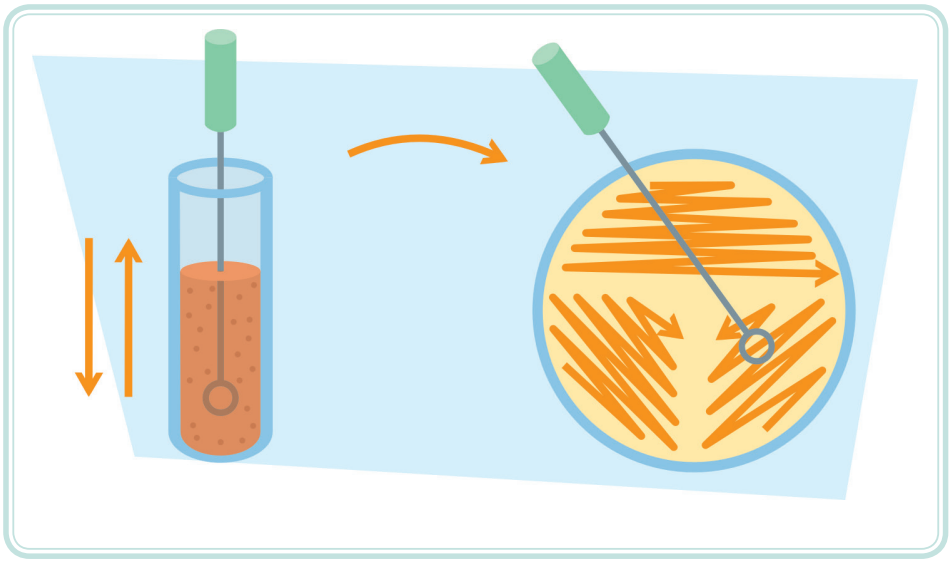


Figura 8.4: Esquema da técnica de semeadura em meio sólido (placa de *Petri* – técnica do esgotamento)
Fonte: CTISM

e) Técnica V – Meio sólido (placa de *Petri* – técnica de *Pour-Plate*)

- Semear, com pipeta esterilizada, 0,1 ml de suspensão contendo bactérias, no fundo da placa de *Petri* esterilizada.
- Verter o meio de cultura (ágar simples) dissolvida a 40 – 45°C.
- Submeter a placa a movimentos rotatórios suaves, com a finalidade de misturar o inóculo com o ágar.
- Esperar solidificar o meio.

- O objetivo da técnica de semeadura em *Pour-Plate* é obter colônias isoladas (qualitativo) ou realizar contagem de colônias em placas (quantitativo). Nessa técnica, deve-se tomar cuidado para não adicionar o meio em temperatura elevada sobre o inóculo, pois isso poderá matar as bactérias.

8.6 Método do Número Mais Provável (NMP)

O método do NMP permite calcular o número de um microrganismo específico numa amostra, utilizando tabelas de probabilidade.

Diluições decimais da amostra são inoculadas em séries de tubos contendo meio líquido seletivo (Figura 8.5). Os tubos são positivos quando têm crescimento e/ou produção de gás de fermentação.

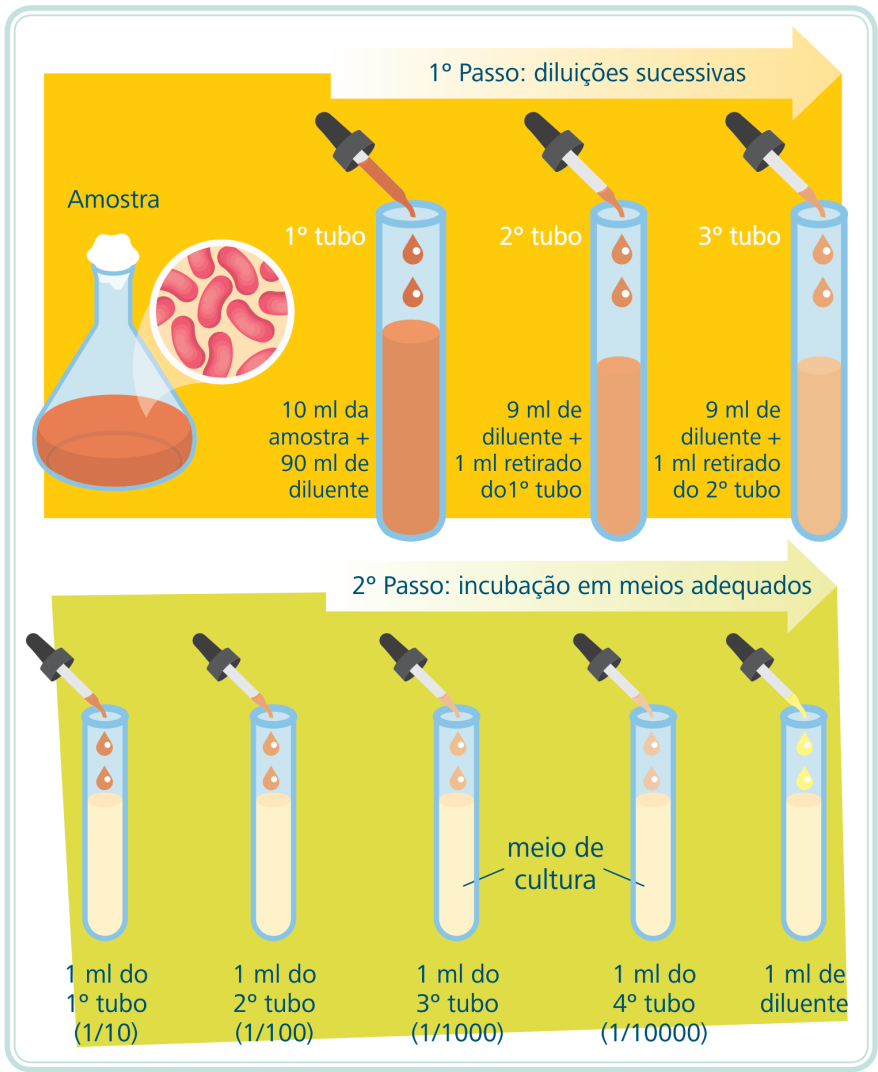


Figura 8.5: Diluições decimais da amostra inoculadas em séries de tubos contendo meio líquido seletivo
Fonte: CTISM

A densidade bacteriana é determinada pela combinação de resultados positivos e negativos numa tabela designada NMP.

Esse método é constituído por três testes:

a) Teste presuntivo;

b) Teste confirmativo;

c) Teste completo.

O **teste presuntivo** fornece uma estimativa preliminar da densidade do grupo bacteriano baseada no enriquecimento em meio minimamente restritivo. Os resultados deste teste não podem ser usados sem confirmação posterior.

O **teste confirmativo** é a segunda etapa do NMP. Os tubos considerados positivos no teste anterior são inoculados em tubos de meio mais seletivo e inibidor. As reações positivas são lidas e a densidade calculada com a ajuda da tabela NMP.

O **teste completo** é a terceira etapa. É utilizada apenas na determinação do número de coliformes totais. Os tubos positivos do teste anterior são submetidos a testes adicionais para isolamento e identificação dos microrganismos. Devido à morosidade deste teste, ele, normalmente, não é utilizado.

Resumo

Nessa aula, tivemos a compreensão de como realizar algumas provas bioquímicas e técnicas de enumeração e detecção dos microrganismos, as quais exigem uma boa carga de conhecimento em microbiologia.

Atividades de aprendizagem

1. Para que servem as provas bioquímicas?

2. Quando a prova de catalase é considerada positiva?

3. Quando a prova da citocromo-oxidase é considerada positiva?

4. Por que as leituras das provas fermentativas devem ser feitas em, no máximo, 24 horas?

5. Comente sobre a prova vermelho de metila (VM).

6. Descreva a prova de motilidade.

7. O que são meios de cultivos ou meios de cultura?

8. Classifique os meios de cultivos:

a) Quanto ao estado físico.

b) Quanto à função.

9. Cite as regras que devem ser seguidas durante as inoculações.

10. Diferencie as técnicas de semeaduras em meio líquido, em meio semissólido e em meio sólido.

11. Comente sobre o método do número mais provável (NMP).

Referências

ALBERTS, B.; BRAY, O.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. **Fundamentos da Biologia Celular**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

AMABIS, J. M.; MARTHO, G. R. **Biologia**. 2ª série. V. 2. São Paulo: Moderna, 2004.

BIER, O. G.; MOTTA, W. D.; VAZ, N. M. **Imunologia Básica e Aplicada**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1977.

BIER, O. G. **Microbiologia e Imunologia**. 3. ed. São Paulo: Melhoramentos, 1984.

BLACK, J. G. **Microbiologia**: fundamentos e perspectivas. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

DAVIS, S.; BURNS, R. G. **Decolorization of Phenolic Effluents by Soluble and Immobilized Phenol Oxidases**. *Applied* Microbiology and Biotechnology, 1990. V. 32, p. 721-726.

JAWETZ, E.; MELNICK, J. L.; ADELBERG, E. A. **Microbiologia Médica**. 21. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

JUNQUEIRA, Luiz C.; CARNEIRO, José. **Biologia Celular e Molecular**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

MADIGAN, M. T.; MATINCO, J. N.; PARKER, J. **Brock Biology of Microorganisms**. Upper Saddle River, New Jersey: Prentice Hall, 2003.

PELCZAR Jr, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia**: conceitos e aplicações. V. 1. São Paulo: Makron Books, 1996.

PELCZAR Jr., M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia**: conceitos e aplicações. V. 2. São Paulo: Makron Books, 1997.

PUTZKE, J.; PUTZKE, M. T. L. **Os Reinos dos Fungos**. Santa Cruz do Sul: EDUNISC, 1998.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001, 728p.

RIBEIRO, M. C.; SOARES, M. M. S. R. **Microbiologia Prática: roteiro e manual** – bactérias e fungos. São Paulo: Atheneu, 1993.

TORTORA, J. **Microbiologia**. 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

TRABULSI, L. R.; ALTHERTHUM. F.; GOMPERTZ. O. F.; CANDEIAS, J. A. N. **Microbiologia**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

TRABULSI, L. R.; TOLEDO, M. R. F. de. **Microbiologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1996.

Currículo do professor-autor

Darlene Ana de Paula Vieira é Professora do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás – IFGoiás, atuando na área biológica. Formada em biologia pela Pontifícia Universidade Católica de Goiás (1998), com mestrado em Biologia pela Universidade Federal de Goiás (2006). Acumulou experiência profissional de mais de 14 anos na área de educação. Iniciou as suas atividades profissionais em 1994, como professora da rede estadual de educação.

Nayara Cláudia de Assunção Queiroz Fernandes atua como Técnica em Laboratório de Ciências no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás. Possui graduação em Farmácia pela Universidade Federal de Goiás (2005), com especialização em Ciências Biológicas pelas Faculdades Integradas de Jacarepaguá (2009). Acumulou experiência profissional na área de Farmácia Clínica, com aperfeiçoamento em Farmacologia Clínica pelo Instituto de Ensino Ethosfharma (2006).